

**Das Kohlenhydratspektrum in den
Organen des Flußkrebsses
Orconectes limosus
und seine Veränderungen im Jahresablauf**

**Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin**

1967

**vorgelegt von
Ulrich Speck
aus Berlin**

**Das Kohlenhydratspektrum in den
Organen des Flußkrebsses
Orconectes limosus
und seine Veränderungen im Jahresablauf**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Ulrich Speck

aus Berlin

1. Referent: Prof. Dr. K. Urich

2. Referent: Prof. Dr. G. Kümmel

Tag der mündlichen Prüfung: 11. Juli 1967

Tag der Promotion:

18. Dez. 1967



Die vorliegende Arbeit entstand auf Anregung und unter Anleitung von Prof. Dr. K. Urich in der Zeit von September 1964 bis November 1966 am 2. Zoologischen Institut der Freien Universität Berlin. Zu besonderem Dank bin ich Herrn Prof. Dr. Urich für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes und die ständigen Bemühungen um gute Arbeitsbedingungen in dem von ihm geleiteten Institut verpflichtet. Die stete persönliche Anteilnahme am Fortgang der Arbeit war mir eine große Hilfe.

Den übrigen Institutsangehörigen danke ich für die weitgehende Unterstützung insbesondere bei der Durchführung der experimentellen Arbeiten.

Für die Untersuchungen wurden Leihgaben der Deutschen Forschungsgemeinschaft an Herrn Prof. Dr. Urich benutzt.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einführung und Literaturübersicht	7
Material und Methodik	10
1 Die chemischen Grundlagen	10
2 Tiermaterial	14
3 Summarische Bestimmung der Neutralzucker	14
3.1 Aufarbeitung der Organe	14
3.2 Fraktionierung der Kohlenhydrate	16
3.3 Quantitative Bestimmung	17
4 Nachweis und Bestimmung der einzelnen Kohlenhydrate	17
4.1 Aufarbeitung der Organe	18
4.2 Fraktionierung	18
Auftrennung in die 4 Hauptfraktionen.....	18
Isolierung der einzelnen Zucker	20
4.3 Nachweis und Bestimmung	23
4.4 Berechnung der Kohlenhydratkonzentrationen	28
4.5 Kritik der Methode	29
Ergebnisse in tabellarischer Übersicht	31
Diskussion der Ergebnisse	39
1 Die Kohlenhydrate: Vorkommen und biologische Funktion	39
1.1 Das Kohlenhydratspektrum	39
1.2 Funktionelle Betrachtung	42
1.3 Wechselseitige Beziehungen zwischen den Kohlenhydraten	53
2 Kohlenhydrathaushalt der Organe	55
2.1 Überblick über Kohlenhydratspektrum und Funktion der Organe	55
2.2 Charakterisierung der einzelnen Organe	57

3	Einflüsse der verschiedenen physiologischen Faktoren im Jahrescyclus auf den Kohlenhydrathaushalt	69
3.1	Die Kohlenhydratspeicherung	70
3.2	Die Fortpflanzung	78
3.3	Die Häutung	82
3.4	Haltung unter unphysiologischen Bedingungen	89
	Zusammenfassung	92
	Literaturverzeichnis	94
	Anhang: Lebenslauf	

Einführung und Literaturübersicht

Unter Anwendung neuerer Nachweis- und Trennungsvorfahren soll versucht werden, ein Bild über die Art und Menge der in den einzelnen Organen des Flußkrebsses Orconectes limosus vorliegenden Kohlenhydrate zu gewinnen. Dabei wird zugleich ein Verteilungsmuster der verschiedenen Substanzen beschrieben.

Durch wiederholte Untersuchungen an Tieren unterschiedlichen physiologischen Zustandes können Hinweise auf jahrescyclische Veränderungen des Kohlenhydratgehalts und -stoffwechsels der Flußkrebse erhalten werden.

In der Literatur finden sich zu diesem Thema keinerlei umfassende Arbeiten. Der Kohlenhydrathaushalt der Crustaceen ist unter häufig wechselnden, zum Teil sehr speziellen Gesichtspunkten behandelt worden.

Die ersten Untersuchungen stammen von Cl. BERNARD (1853, 1879). Er konnte mit den auch später noch benutzten physikalischen Methoden "Glykogen" in der Mitteldarmdrüse der Flußkrebse nachweisen. Die folgenden Arbeiten von KIRCH (1887), SCHÖNBORN (1911) und SMITH (1914) zeigten bereits die Berücksichtigung vieler physiologischer Faktoren, der Häutung, Nahrungsaufnahme und Speicherung und der Fortpflanzung. Die Einführung chemischer Bestimmungsmethoden ermöglichte, in der Folgezeit auch die alkohollöslichen Zucker zu beachten (BAUMBERGER u. DILL, 1928; DRILHON, 1935; RENAUD, 1949). Den ersten Versuch einer Identifizierung definierter Kohlenhydrate unternahmen ROCHE u. DUMAZERT (1940). Bei der Untersuchung der Blutzuckerregulation wiesen sie Glucose und gebundenes Glucosamin nach. KLEINHOLZ u. LITTLE (1949) und KLEINHOLZ (1950) fanden in ähnlichem Zusammenhang, daß nur 25 % der reduzierenden Substanzen in der Hämolymphe von Libinia vergärbar sind.

Die genaue Zusammensetzung des meist komplexen Kohlenhydratspektrums der Crustaceen wurde erst nach Einführung chromatographischer Verfahren bestimmt: Im wesentlichen übereinstimmend konnten von HU (1958), MCWHINNIE u. SALLER (1960), MEENAKSHI u. WANG (1961)

und in neuester Zeit DEAN u. VERNBERG (1965) und TELFORD (1965) freie Glucose, Galaktose, Mannose, Fucose, Maltose, Maltotriose, Maltotetraose und Glucose-6-phosphat gefunden werden. FAIRBAIRN (1958) und DUTRIEU (1959) wiesen zusätzlich auf das Vorkommen von Trehalose hin. Die Polysaccharide enthalten nach den Angaben von HU (1958), MEENAKSHI u. SCHEER (1959) und DALL (1965c) Glucose, Galaktose, Fucose und Hexosamin. Nur die Glucose konnte als einzelne Substanz quantitativ bestimmt werden. Dementsprechend fehlen genauere Untersuchungen über jahrescyclische Veränderungen der Kohlenhydratzusammensetzung bei Crustaceen bisher völlig.

Bei der folgenden Zusammenstellung des Einflusses der einzelnen physiologischen Faktoren muß die Verschiedenartigkeit des untersuchten Materials und der verwendeten Methoden berücksichtigt werden.

Die Ernährung

Den Einfluß der Ernährung auf den Polysaccharidgehalt des gesamten Tieres oder der Mitteldarmdrüse beschreiben schon ältere Arbeiten (KIRCH, 1886; SCHÖNBORN, 1911). Als wesentliche Tatsache ist festzuhalten, daß der "Glykogen"anteil bei Hunger nicht beliebig absinkt und andererseits nur bis zu einem bestimmten Maß zunimmt. ROCHE u. DUMAZERT (1940), DALL (1964) und DEAN u. VERNBERG (1965) berichten über ein ähnliches Verhalten des Blutzuckers, der allerdings in engeren Grenzen und vermutlich auch temperaturabhängig reguliert wird. Einen Einblick in den Mechanismus der Speicherung gewähren MEENAKSHI u. SCHEER (1961).

Die Häutung

Als Grundlage für alle Untersuchungen der Häutung an decapoden Crustaceen kann die Einteilung von DRACH (1939) in aufeinanderfolgende, meist morphologisch charakterisierte Stadien dienen:

Stadium A: Integument völlig weich (A_1) oder Carapax pergamentartig (A_2), bis maximal 2 Tage nach der Häutung.

Stadium B: Einzelne Teile des äußeren Integuments noch verformbar, bis maximal 6 Tage nach der Häutung.

Stadium C: bis zum Stadium (C₄) ist der Aufbau des Integuments völlig abgeschlossen.

Stadium D: Häutungsvorbereitung.

An umfassenderen Darstellungen über stoffwechselphysiologische Veränderungen im Rahmen der Häutung sind die Arbeiten von DRILHON (1935) und RENAUD (1949) zu nennen. Untersucht wurden insgesamt Polysaccharidgehalt (RENAUD, 1949; TRAVIS, 1955a/57; SCHWABE, SCHEER u. SCHEER, 1952), freie Glucose bzw. reduzierende Substanzen (BAUMBERGER u. DILL, 1928; DRILHON, 1935; RENAUD, 1949; SCHEER, 1959; MCWHINNIE u. SALLER, 1960; RIEGEL, 1960) und Hexosamin (RENAUD, 1949; DALL, 1965c). Die Chitinsynthese erfolgt in den Stadien A und B (MEENAKSHI u. SCHEER, 1961). Die Ergebnisse lassen sich in schematischer Form darstellen:

Häutungsstadien:	→ C	→ D	→ A	→ B	→ C
Glykogen		Maximum		Minimum	
Blutzucker		Maximum	Minimum		
Hexosamin		M a x i m u m			
Chitinsynthese			Maximum		

MCWHINNIE u. KIRCHENBERG (1962) und HEINEMANN (1964) schlossen aus dem deutlich erhöhten O₂-Verbrauch von Orconectes nach der Häutung auf eine Steigerung der allgemeinen Stoffwechselaktivität.

Diese Angaben beziehen sich auf das gesamte Tier oder die Organe Mitteldarmdrüse und Epidermis. Die übrigen Organe der Crustaceen wurden meist nicht beachtet.

Geschlechtsunterschiede und Eibildung

Es liegen keine systematischen Untersuchungen zum Thema der Geschlechtsunterschiede und Fortpflanzung vor. Die Glykogenwerte scheinen bei den weiblichen Tieren niedriger zu liegen (SMITH, 1914; BAUMBERGER u. DILL, 1928; SCHWABE, SCHEER u. SCHEER, 1952), die Blutzuckerkonzentration erhöht zu sein (DRILHON, 1935; TELFORD, 1965). Weitere Einzelangaben über geschlechtsbedingte Unterschiede bei Crustaceen finden sich bei DRILHON, 1935 (Phosphor), SCHEER,

SCHWABE u. SCHEER, 1952 (O_2 -Verbrauch der Mitteldarmdrüse) und NEILAND u. SCHEER, 1953 (Protein- und Lipidkonzentration).

Temperatur, Jahrescyclus und Tagesrhythmus

Erst in jüngster Zeit wiesen DEAN u. VERNBERG (1965b) auf die Bedeutung der Temperatur für den Blutzucker hin. Neben den quantitativen Veränderungen ergaben sich auch Anzeichen für eine qualitative Verschiebung in der Zusammensetzung des Blutzuckers im Laufe des Jahres. Die Autoren berichten weiterhin (1965a) über einen deutlich ausgeprägten Tagesrhythmus im Blutzuckergehalt bei der Winkerkrabbe Uca pugilator.

Es liegt bisher keine geschlossene Bearbeitung des Kohlenhydrat-haushaltes der Crustaceen unter Berücksichtigung der verschiedenen Einflüsse wie Ernährung, Häutung, Fortpflanzung, Jahreszeit und Temperatur vor. Eine quantitative Bestimmung der einzelnen Kohlenhydrate wurde in keinem Fall durchgeführt; die wenigen qualitativen Untersuchungen beschränken sich meist auf den Blutzucker. Im wesentlichen fanden nur die Organe Mitteldarmdrüse und Epidermis Beachtung. Hieraus ergibt sich die Fragestellung der vorliegenden Arbeit.

Material und Methodik

1. Die chemischen Grundlagen

Bausteine aller höhermolekularen Kohlenhydrate sind die Monosaccharide. Sie sind als Oxydationsprodukte mehrwertiger Alkohole aufzufassen und entsprechend in ihrem chemischen Verhalten durch das Nebeneinander von Oxo- und Hydroxylgruppen gekennzeichnet. Durch Oxydation der primären Alkoholgruppe am C-1 eines Zuckeralkohols entsteht eine Aldose; die Oxydation einer sekundären Alkoholgruppe am C-2 führt zur Bildung einer Ketose.

Die Reaktionen der Monosaccharide

Die auffälligste Eigenschaft der einfachen Zucker ist ihre Reduktionswirkung. So wurde auch bei den ersten quantitativen Bestimmun-

gen das Reduktionsvermögen gemessen ("reduzierende Zucker"). Der Nachteil dieses Verfahrens besteht darin, daß ein Teil der im Organismus vorkommenden Intermediärprodukte ähnlich reduzierend wirkt und besonders bei geringen Kohlenhydratkonzentrationen das Ergebnis verfälscht. Dagegen ist die Bildung der gelben, wenig wasserlöslichen Osazone aus Aldosen und Ketosen mit Phenylhydrazin sehr spezifisch. Die Reaktion findet am C-1 und C-2 statt und gibt für Zucker, die sich nur in der Konfiguration an diesen Kohlenstoffatomen unterscheiden (z. B. Fruktose-Glucose-Mannose, s. Fig. 1), das gleiche Osazon.

In neuerer Zeit sind verschiedene analytisch nutzbare Farbreaktionen der Zucker mit organischen Reagenzien beschrieben worden.

Die Derivate der Monosaccharide

- a) Phosphorsäureester entstehen durch Veresterung bevorzugt der primären Hydroxylgruppen. Sie stellen im Organismus die außerordentlich wichtigen reaktionsfähigen Ausgangsstoffe für zahlreiche Umsetzungen und Synthesen (s. Fig. 2, e).
- b) Durch Substitution des Hydroxyls am C-2 durch eine Aminogruppe erhält man die Aminozucker, deren wichtigste Vertreter das Glucosamin (s. Fig. 2, g) und das Galaktosamin sind. Von diesen leiten sich durch Acetylierung der Aminogruppe die N-Acetylaminozucker ab. Aus N-Acetylglucosamin (s. Fig. 2, h) ist das Chitin als wichtigstes tierisches Stützpolysaccharid aufgebaut.
- c) Die Hexosen können im Organismus unter bestimmten Bedingungen am C-6 oxydiert werden. Die entstehenden Uronsäuren (s. Fig. 2, c) sind als Intermediärprodukte und - zumindest bei den Wirbeltieren - für die Entgiftung von Bedeutung.
- d) Desoxyzucker erhält man formal durch Ersatz einer oder mehrerer Hydroxylgruppen durch Wasserstoff. Neben der bekannten 2-Desoxy-D-ribose interessiert hier besonders die L-Fucose (s. Fig. 2, b), eine 6-Desoxy-L-glaktose.

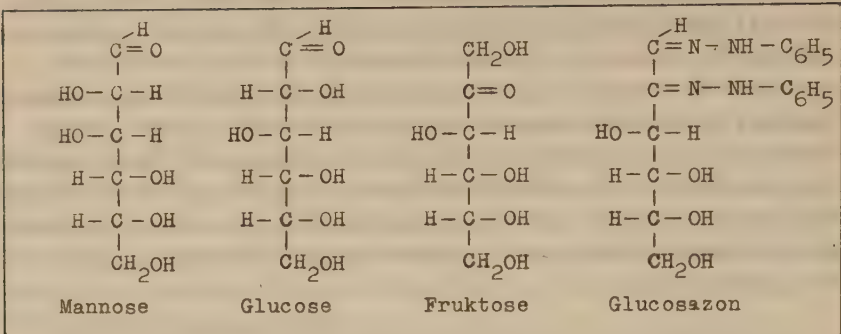


Fig. 1 Zucker, die sich nur am C_2 unterscheiden, bilden das gleiche Osazon.

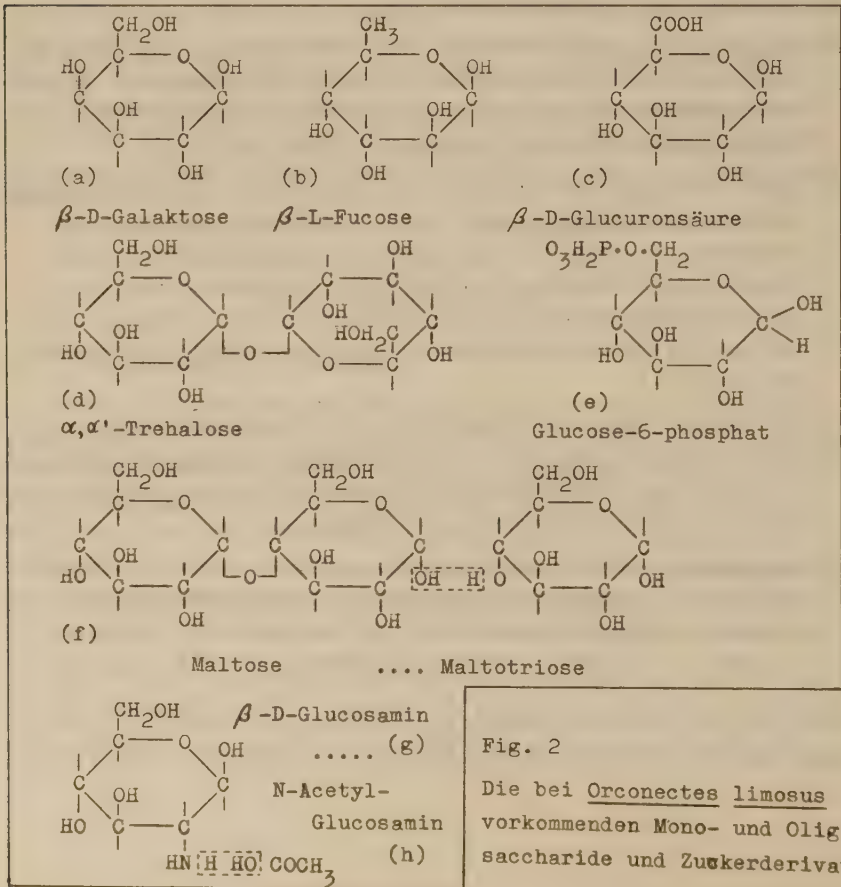


Fig. 2

Die bei Orconectes limosus vorkommenden Mono- und Oligosaccharide und Zuckerderivate.

Polymere Kohlenhydrate

Die natürlicherweise hauptsächlich in Ringform vorliegenden Zucker können als Halbacetale mit Hydroxylgruppen zu Vollacetalen weiterreagieren. Es entstehen Glykoside. Findet die Reaktion mit dem Halbacetalhydroxyl eines weiteren Zuckers statt, so verbleibt dem entsprechenden Disaccharid keine reaktionsfähige, reduzierende Halbacetal-Hydroxylgruppe (Trehalose, Fig. 2, d). Meist wird jedoch die Bindung eines Halbacetal-Hydroxyls mit einer alkoholischen Hydroxylgruppe des anderen Zuckers erfolgen; das entstehende Disaccharid verfügt noch über eine reaktionsfähige Halbacetal-Hydroxylgruppe; es kann mit einem weiteren Baustein reagieren und so fort. Auf diese Weise entstehen hochpolymere Kohlenhydrate.

Fraktionierung der Kohlenhydrate

Wesentlich für die Trennung der Zucker sind ihre physikalischen Eigenschaften, wie Molekülgröße, Löslichkeit und Ladung. Die funktionellen Gruppen der Kohlenhydrate lassen bereits auf gute Löslichkeit in polaren Flüssigkeiten schließen. Von sehr hochmolekularen Strukturpolysacchariden abgesehen, sind alle Zucker gut in Wasser zu lösen. Polysaccharide fallen bereits in ca. 60%igem Alkohol aus, die Löslichkeit der Oligosaccharide in Alkohol verringert sich mit steigendem Molekulargewicht.

Die Verteilungschromatographie bietet sich für die Trennung an, es müssen jedoch die Besonderheiten der einzelnen Zuckerderivate berücksichtigt werden. Die deutlich unpolaren Desoxyzucker trennen sich am besten ab.

2. Tiermaterial

Die Krebse stammten aus der Havel bei Berlin-Spandau, sie waren von wechselnder Größe, wogen aber mindestens 12 g. Sie wurden wenigstens einen, höchstens jedoch drei Tage gehältert und in dieser Zeit nicht gefüttert.

Um einen Überblick über den Kohlenhydrathaushalt und seine jahresperiodischen Veränderungen zu erhalten, müßten im Idealfalle in geringem zeitlichen Abstand, getrennt für männliche und weibliche Tiere, jeweils in den einzelnen Organen alle vorkommenden Kohlenhydrate quantitativ bestimmt werden. Ein so umfangreiches Untersuchungsprogramm ließ sich schon aus Zeitgründen nicht verwirklichen. Es wurde daher - soweit es das vorhandene Tiermaterial erlaubte - monatlich eine summarische Bestimmung durchgeführt und nur zu drei Zeitpunkten eine detaillierte Analyse angeschlossen. Komplexität und starke jahreszeitliche Veränderungen in qualitativer und quantitativer Hinsicht haben zur Folge, daß ein Bild des Kohlenhydrathaushaltes in der wünschenswerten Geschlossenheit zum Teil nicht erreicht wurde.

Schwierigkeiten bereitete die Häutung: Die Flußkrebse häuten sich in den Monaten Juni bis Mitte September zwei- bis dreimal schnell hintereinander. Es war nicht möglich, diese Häutungen einzeln zu untersuchen. Daher wurde versucht, sie zu einer repräsentativen Häutung zusammenzufassen. Die Fänge von Juni bis August enthielten das geeignete Material (s. Tab. 1).

3. Summarische Bestimmung der Neutralzucker

Aufarbeitung der Organe

Durch Abschneiden eines Laufbeines wurde zunächst ca. 1 ml Hämolymphe pro Tier gewonnen und nach der Wägung sofort mit Methanol bis 80 % versetzt. Das Töten durch Chloroform sollte vermieden werden (s. KLEINHOLZ, 1950), Einfrieren bei -60°C kam nicht in Frage, da die Gewebe dann nicht mehr einwandfrei zu präparieren sind. Als beste Methode wurde langsames (ca. 15 min) Abkühlen der Tiere bis schließlich unter 0°C gefunden. Die völlig durchgefrorenen Krebse

Datum der Entnahme	Zahl der Tiere		Charakterisierung	Untersuchung
	♂	♀		
15.6. bis 30.8.65	60	80	in den letzten Vorhäutungsstadien gefangen, bis höchstens 1 Woche einzeln gehäutert und maximal 24 Stunden nach der Häutung entnommen; Carapax häutig bis pergamentartig; im Text als "frisch gehäutet" bezeichnet	S + D
10. bis 20.10.65	80	80	Tiere mit völlig ausgehärtetem Integument (Zwischenhäutungsstadium), die sich aber noch nicht zur Überwinterung in das tiefe Wasser zurückgezogen hatten; Ovargewicht der weiblichen Tiere 300 bis 400 mg; im Text als "Herbsttiere" bezeichnet	S + D
29.11.65	3	3	Zwischenhäutungsstadium, aus ca. 5 m Wassertiefe: Überwinterung	S
1.2.66	2	2	Überwinterung	S
4.3.66	2		letzte Phase der Überwinterung; im Text als "Frühjahrstiere" bezeichnet	S + D
29.3.66		2	Aufstieg in die Uferregion Kopulationen	S
11.4.66	5	4	morphologisch noch keine Anzeichen der Häutung	S
20.5.66	4	4	Gastrolithenbildung bei männlichen Tieren, weibliche tragen die Eier unter dem Schwanz	S
Juni 66	4	4	mit deutlichen Resorptionserscheinungen am Carapax, 3 bis 4 Tage vor der ersten Häutung des Jahres	S

Tab. 1: Tiermaterial

S - summarische Bestimmung der Neutralzucker
D - detaillierte Analyse der Kohlenhydrate

konnten während des Auftauens langsam von außen nach innen fortschreitend präpariert werden:

Als Probe für das Integument wurde der Carapax abgelöst und mechanisch gereinigt, die darunterliegende Epidermis wurde so gut wie möglich abgezogen. Die ausgebrochenen Kiemen mit dem daran haftenden, gefrorenen Atemwasser konnten auf Filterpapier auftauen und abtropfen. Das Herz läßt sich als kleiner Eisblock entnehmen, ebenso Antennendrüse, Ovar beziehungsweise Hoden und Mitteldarmdrüse mit dem Magen. Der Magen wurde abgetrennt, kurz gespült und die Chitinhaken entfernt. Nachdem der Schwanzmuskel aus dem Integument befreit war, konnte der Enddarm entnommen und - falls erforderlich - durch Entlangstreichen mit einer Pinzette gereinigt werden. Der Schwanzmuskel löste sich heraus und gab das Bauchmark frei, das zusammen mit dem Oberschlund- und Sterinalganglion die Probe Nervensystem ergab.

Alle Organe kamen in eisgekühlte Gläschen, um Veränderungen der Kohlenhydrate vorzubeugen. Ein Glykogenabbau scheint allerdings kaum zu befürchten zu sein (RENAUD, 1949; SCHWABE, SCHEER u. SCHEER, 1952). Nach der Wägung zur Bestimmung des Frischgewichtes wurden die Proben in 80%igem Methanol mit einem Duall-Tissue Grinder der Firma Kontes oder (Carapax) mit dem Atomixmill homogenisiert. Aus dem Homogenat wurde ein Teil für die Trockengewichtsbestimmung (105 °C, Gewichtskonstanz) entnommen.

3.2 Fraktionierung der Kohlenhydrate

Die Auftrennung der Kohlenhydrate erfolgte im wesentlichen nach dem Verfahren von HU (1958): Die Proben wurden zentrifugiert, der Niederschlag einmal mit 80%igem Methanol nachgewaschen und die Überstände mit den Mono- und Oligosacchariden vereinigt (I). Der Rückstand wurde mit kalter 7%iger Perchlorsäure zweimal extrahiert, die Überstände (II) aufbewahrt. Um die restliche Perchlorsäure zu entfernen, wurde der Niederschlag mit 80%igem Methanol gewaschen, dann wurde mit 2 n KOH schnell verrührt, 10 min auf 100 °C erhitzt und schließlich zentrifugiert (III). Das Polysaccharid der Überstände (II) und (III) wurde durch zwei Teile Methanol gefällt (12 Stunden Kühlschrank) und einmal umgefällt.

Bei den zwei Extraktionsverfahren für Polysaccharide sollte es sich nicht um eine Trennung verschiedener Polysaccharide handeln

(vergl. RENAUD, 1949; HU, 1958). Es kam nur darauf an, für die spätere Chromatographie mit einfachen Mitteln eine relativ "saubere" Fraktion (II) zu erhalten, ohne das Restpolysaccharid (III) völlig zu vernachlässigen. Der Alkohol aus der Fraktion (I) wurde bei ca. 70 °C abgedampft und die Proben entsprechend ihrem Kohlenhydratgehalt verdünnt.

3.3

Quantitative Bestimmung

Zur Bestimmung der Kohlenhydrate in den drei Fraktionen wurde das Verfahren von ROE (1955) etwas verändert übernommen:

0,5 ml Probe + 1 ml 0,02%ige Anthronlösung in 95%iger Schwefelsäure werden 10 min. auf 100 °C erhitzt, Photometrie bei 620 nm.

1 µg Glucose ergibt eine Extinktion von ca. 0,035.

Die Reaktion erfaßt unter diesen Bedingungen fast nur Hexosen; Glucose und alle Polymeren geben sehr ähnliche Werte.

Die Berechnung der Zuckermengen erfolgt in Glucoseäquivalenten. Als Bezugsbasis wurde das Frischgewicht gegenüber dem Trockengewicht bevorzugt, da für alle gelösten Zucker die Konzentrationen stärker interessieren als die Absolutmengen, bezogen auf die Körpersubstanz, und da die Werte für Individuen im gleichen physiologischen Zustand weniger schwanken.

4. Nachweis und Bestimmung der einzelnen Kohlenhydrate

Eine detaillierte Analyse der Kohlenhydrate einschließlich der Zuckerderivate macht eine schonendere Behandlung der verschiedenen Substanzen erforderlich, als sie für die summarische Bestimmung angewendet wurde. Darüber hinaus sollen die Kohlenhydrate möglichst weitgehend von den anderen Substanzklassen abgetrennt werden. Die Verschiedenartigkeit der einzelnen Zucker (Molekulargewicht, Ladung, Löslichkeit, Empfindlichkeit gegen Reagenzien und Wärme) läßt einige der üblichen Reinigungsverfahren (Ionenaustauscher, Hitze- und Säurefällung) nicht zu. Auch aus diesem Grunde mußten die im vorhergehenden Abschnitt beschriebenen Methoden abgeändert werden.

Zur Untersuchung gelangten die in Tab. 1 bezeichneten "frisch gehäuteten" Tiere, die "Herbst"- und die "Frühjahrstiere".

4.1

Aufarbeitung der Organe

Bei der Präparation wurde wie S. 16 beschrieben verfahren, die Organe jedoch sofort in stark unterkühlten Methanol eingeworfen und bei -30°C gelagert. Bei der folgenden Analyse konnten das Nervensystem und die Geschlechtsorgane nicht berücksichtigt werden; Magen und Enddarm ergaben eine einzige Probe. Nach der Bestimmung des Frischgewichts wurden die Organe bei einer Endkonzentration von 80 % Alkohol homogenisiert und eine Probe für die Trockengewichtsbestimmung entnommen.

4.2

Fraktionierung

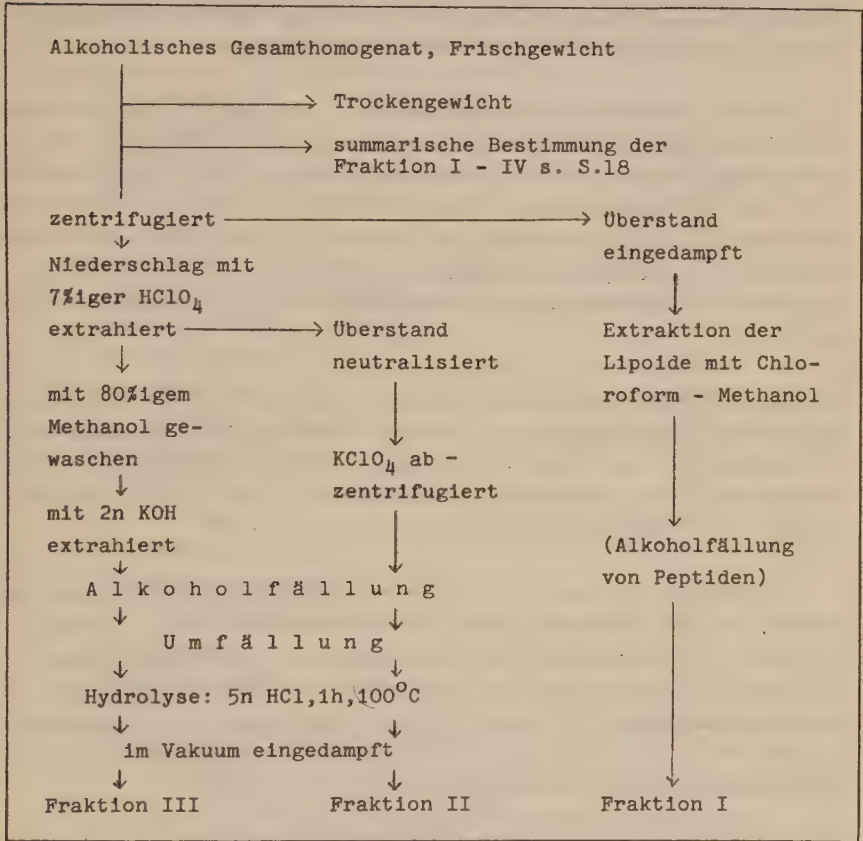
Auftrennung in die vier Hauptfraktionen und Vorreinigung

Die Fraktionierung der Kohlenhydrate für die grundlegende summarische Bestimmung an kleinen Proben der Organhomogenate konnte im wesentlichen wie im vorhergehenden Abschnitt (S. 16) beschrieben durchgeführt werden. Nur wurde der Überstand der alkalischen Hydrolyse nach Fällung der Polysaccharide (Fraktion III) nicht verworfen. Der kalilaugehaltige, alkoholische Überstand wurde durch Neutralisation mit Perchlorsäure von einem Überschuß an Ionen befreit. Die anschließend eingedampften Proben enthielten den alkohollöslichen, proteingebundenen Zucker (Fraktion IV). Durch Hydrolyse (1 Stunde 2N HCl bei 100°C) sollten verbliebene Glykosidbindungen aufgespalten werden. Die Salzsäure wurde im Vakuum über festem Natriumhydroxyd abgedampft und vorhandene Farbstoffe soweit möglich mit Isopropanol-Benzol (1:1) ausgeschüttelt.

In einem zweiten Ansatz brauchten die Absolutmengen bei der Vorbereitung der Proben für die Chromatographie und die verschiedenen chemischen Bestimmungen nicht mehr beachtet zu werden. Es kam nur darauf an, die Verhältnisse der verschiedenen Kohlenhydrate zueinander zu ermitteln.

Die alkoholischen Homogenate oder Teile davon wurden zentrifu-

giert, der Überstand abgetrennt und im Vakuum-Rotationsverdampfer bei max. 30 °C eingedampft. Der Rückstand ließ sich in einem Gemisch von Wasser-Methanol-Chloroform (2:1:4) lösen und durch Zentrifugieren in zwei Phasen auftrennen, wovon die obere die Kohlenhydrate, die untere die Lipide enthielt. Die wäßrige Phase wurde wiederum bei niedriger Temperatur weitgehend eingengt.



Tab. 2: Schema der Aufarbeitung der Gesamthomogenate zu den vorgereinigten Extrakten

Der protein- und lipidhaltige Niederschlag des Alkoholhomogenats wurde mit 7%iger Perchlorsäure einmal kalt extrahiert (Fraktion II), abzentrifugiert, der Rückstand wie vorn beschrieben mit Methanol gewaschen und dann entsprechend mit 2 n KOH behandelt (Fraktion III).

Zur Neutralisation des Perchlorsäureextraktes wurde nach spätestens 20 min. mit KOH gegen Phenolphthalein neutralisiert. Das Kaliumperchlorat fällt über Nacht bei $+4^{\circ}\text{C}$ weitgehend aus und kann abzentrifugiert werden.

Die Polysaccharide aus dem sauren und alkalischen Extrakt konnten jeweils mit 2 Teilen Methanol gefällt und ein- oder zweimal umgefällt werden. Anschließend folgte die Hydrolyse entsprechend dem Verfahren von HU (1958) in 5 n HCl, 1 h, bei 100°C . Die Proben wurden im Vakuum über Natriumhydroxyd eingedampft.

Die beschriebene Reinigung entspricht nur dem Prinzip. In Organen mit geringem Kohlenhydratgehalt oder hoher Konzentration an Intermediärprodukten und Peptiden mußten einige Arbeitsgänge wiederholt oder variiert werden. In der Fraktion I erwies es sich oft als nützlich, die Alkoholfällung der Proteine in der stark konzentrierten Probe in der Kälte zu wiederholen. Ebenso erforderte die Abtrennung der Lipoproteide der Mitteldarmdrüse ein gesondertes Vorgehen.

Alle auf diese Weise erhaltenen Extrakte wurden in 5-ml-Ampullen übergeführt, mit Methanol auf ca. 70 % gebracht und auf eine Konzentration von ca. 10 mg Glucoseäquivalenten/ml (Anthrone-Methode) eingestellt. Sie enthielten entsprechend 0,5 bis >50 mg Neutralzucker. Die Lagerung erfolgte bei -30°C .

Ionenaustauscher waren zur weiteren Reinigung vorerst nicht geeignet, da die geladenen Zucker verlorengegangen wären. Dagegen bot sich zur Untersuchung der Zuckerderivate die Entsalzung und Trennung an Sephadex G-10 an. Mit einem Fraktionierungsbereich für ein Molekulargewicht zwischen 100 und 1000 werden auch an einer kleinen Säule (450 x 12 mm) für die weitere Dünnschicht- oder Papierchromatographie ausreichende Erfolge erzielt.

Isolierung der einzelnen Zucker

Der Nachweis der einzelnen Kohlenhydrate wurde außer mit Hilfe von chemischen Reaktionen stets durch chromatographische Abtrennung vorgenommen. Auch eine quantitative Bestimmung insbesondere der Neutralzucker war nur nach chromatographischer Isolierung möglich.

In der vorliegenden Arbeit wurde fast ausschließlich Kieselgel-G

verwendet, je nach dem speziellen Zweck auch mit Acetat- oder Borsäureimprägnierung. Als Testsubstanzen standen die in Tab. 3 angeführten Kohlenhydrate zur Verfügung. Einen Überblick über die verschiedenen Trennsysteme und die damit erzielten Ergebnisse gibt Tab. 4.

Substanz	Kurzbezeichnung
D - Glucose	G1
D - Galaktose	Ga
D - Mannose	Mn
2 - Desoxy-D-Glucose	DG1
L - Fucose	Fu
α, α' - D - Trehalose $\cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	Tr
N - Acetyl-D-glucosamin	AG1a
D - Glucosamin $\cdot \text{HCl}$	G1a
D - Galaktosamin $\cdot \text{HCl}$	Gaa
D - Fruktose	Fr
L - Rhamnose $\cdot \text{H}_2\text{O}$	Rh
L - Sorbose	So
L - Arabinose	Ar
D - Xylose	Xy
D - Ribose	R1
D - Glucuronsäure	Glu
β -D - Galakturonsäure $\cdot \text{H}_2\text{O}$	Gau
Saccharose	Sc
Maltose $\cdot \text{H}_2\text{O}$	M1
und weitere Maltosesaccharide (Ml_3 , Ml_4) aus der Glykogenhydrolyse	

Tab. 3: Die chromatographisch getrennten Kohlenhydrate und ihre Kurzbezeichnungen

Besonders hervorgehoben werden muß das System (a): Neben der geringen Neigung zur "Schwanzbildung" auch bei hoher Auftragsmenge erlaubt es einwandfreie Trennungen an verhältnismäßig unreinen Proben, während mit den übrigen Systemen (Tab. 4) die Chromatographie der Organextrakte ohne Reinigung über den Ionenaustauscher meist unmöglich war. Zudem konnten gerade die beim Flußkrebs vor-

System	Schicht, Fließmittel, Aufspaltung des Testsubstanzgemisches
(a)	Kieselgel - G - Borsäure Methyläthylketon - Eisessig - Methanol 60 + 20 + 20 DGl - Fu - Xy - Ar, Gl - Mn, Ga, Ri - Sc, Fr - So, Ml - Tr - Ml ₃ - Ml ₄ -
(b)	Kieselgel - G - Acetat Fließmittel wie vor DGl, Fu, Xy - So, Ar, Gl - Mn, Ga, Fr, Ri - Sc - Ml - Tr - Ml ₃ - Ml ₄ -
(c)	Kieselgel - G - Wasser Fließmittel wie vor DGl - Fu - Xy - So, Ar, Gl - Mn, Ga, Fr - Ri - Sc - (Ml) - Tr -
(d)	Kieselgel - G - Wasser Butanol - Aceton - Wasser 40 + 50 + 10 Fu - DGl, Xy - AGl, Gl, Mn, So - Ar, Fr, Sc - Ga - (Ml) - Tr - Gla - Gaa - Glu, Gau -
(e)	Kieselgel - G - Wasser Essigsäureäthylester - Isopropanol - Wasser 67 + 22 + 11 Xy - Ri, So - Fr, Ar, Mn - Gl - Ga - Sc - Ml - Tr -
(f)	Kieselgel - G - Acetat Fließmittel wie vor Fu - Xy - Ri, DGl - <u>Mn, So, Ar, Fr, Gl</u> - Ga - Sc - Ml - Tr - Glu, Gau -
(g)	Kieselgel - G - Wasser n-Propanol - Essigsäureäthylester - Wasser 70 - 20 - 10 Rh, Fu, Xy - DGl, Gl, So - Mn, Ar, Ga, Fr, Sc - Ri, (Ml) - Tr - Glu - Gau

Tab. 4: Zusammenstellung der verschiedenen dünnstschichtchromatographischen Verfahren und Auftrennung der Kohlenhydrate (s. Tab. 3) im Keilstreifenverfahren in einzelne Banden nach fallenden R_F -Werten geordnet
(Ml) - verschwommene Bande

kommenden Zucker in einer einzigen Chromatographie gut getrennt werden. Die quantitativen Bestimmungen wurden zum großen Teil mit diesem System durchgeführt.

Für die Abtrennung der Uronsäuren erwies sich darüber hinaus Benzol-Methanol-Eisessig (20 + 60 + 20) als Fließmittel als geeignet, für die Osazone Chloroform-Aceton-Methanol (15 + 6 + 5).

Entwickelt wurden die Platten bei 4 °C in Camag-Entwicklungskammern, die gut zu handhaben sind, aber keine Dampfsättigung gewährleisten. Im Bedarfsfall wurde auf die üblichen Glaströge zurückgegriffen.

Die Isolierung und Anfärbung der Aminosucker bereitete auf der Dünnschichtplatte mit Kieselgel-G Schwierigkeiten; es wurden daher papierchromatographische Verfahren verwendet. Die Abtrennung des Glucosamins vom Galaktosamin, auf die es hier ankam, gelang mit Pyridin-Essigsäureäthylester-Wasser-Eisessig (5+5+3+1) im Keilstreifenverfahren (Papier: Schleicher und Schüll 2045 b). Angefärbt wurde mit Acetylaceton-Dimethylaminobenzaldehyd-Reagenz (aus MERCK, Chromatographie, 1961) oder Ninhydrin.

4.3 Nachweis und Bestimmung

Chromatographische Verfahren

Für die Anfärbung der verschiedenen Zucker erwiesen sich als am geeignetsten:

Allgemeine Kohlenhydratanfärbung -

Anilin-Diphenylaminphosphat aus MERCK, Chromatographie (1961)
Reagenz mit sehr breitem Spektrum: Mono- und Oligo-Saccharide, Desoxyzucker, Uronsäuren, Aminosucker;
sehr empfindlich, ausgeprägte bunte Farben, auch im UV, keine Untergrundfärbung.
Unterscheidung 15 min 110 °C und 130 °C möglich,
Trehalose reagiert bei 110 °C fast gar nicht.
Die Anfärbung wird durch Borsäure stark gestört!

Naphtioresorcin - Schwefelsäure aus RANDERATH (1965)

Ebenso breites Spektrum wie vor, aber keine Aminosucker, keine Unterscheidung der Trehalose;
sehr empfindlich, aber geringe Untergrundfärbung,

bunte Farben bei 15 min 110 °C, durch höhere Temperatur Empfindlichkeit erhöht, aber die Farbunterschiede lassen nach; auch für borsäureimprägnierte Schichten gut geeignet.

Naphthoresorcin - Phosphorsäure aus RANDERATH (1965)

Farbvariation; sehr scharf, aber etwas weniger empfindlich.

Orcin - Schwefelsäure

wie Naphthoresorcin, aber meist blaue und violette Farben auf gelbem Untergrund.

Resorcin-Schwefelsäure

weitere Farbvariation, Ketosen und Desoxyzucker gut erkennbar.

Anisaldehyd - Schwefelsäure aus STAHL (1962)

sehr empfindlich, aber Untergrund gefärbt, Farbunterschiede nicht so ausgeprägt; Unterscheidung der Ketosen möglich; nicht für borsäureimprägnierte Platten.

o-Aminophenol - Phosphorsäure aus MERCK (1961)

empfindlich, Farben in gelb-grün und UV, keine Untergrundfarbe; Unterscheidung von Ketosen und Uronsäuren sehr gut möglich.

Reagenzien für besondere Nachweise -

Benzidin - Reagenz aus CRAMER (1958)

gute Empfindlichkeit, Nachweis für reduzierende Zucker, Unterscheidung Pentosen - Hexosen möglich.

Anthron-Reagenz aus STAHL (1962)

Anfärbung auf Ketosen

Anilinphthalat aus STAHL (1962)

sehr empfindlich, reduzierende Zucker, bevorzugt Aldosen.

Die große Zahl der verschiedenen, teils selektiven Anfärbungen, verbunden mit den reichhaltigen Kombinationsmöglichkeiten der imprägnierten Schichten und der Fließmittel, erlaubt leicht eine Trennung der vorkommenden Neutralzucker.

Die Identifizierung wird zunächst durch Vergleich der Laufstrecken unter verschiedenen Bedingungen durchgeführt. Störend wirkt sich aus, daß der untersuchte Extrakt Begleitstoffe enthält, die die R_f -Werte der Kohlenhydrate verändern können. Dies konnte durch eine besondere Anwendung der Keilstreifentechnik ausgeglichen werden (Fig. 3): Die zu untersuchende Probe wird als schmales Band (A)

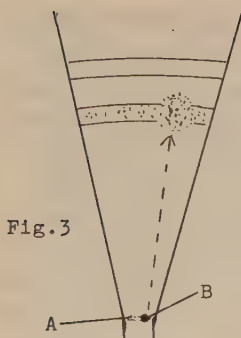


Fig. 3

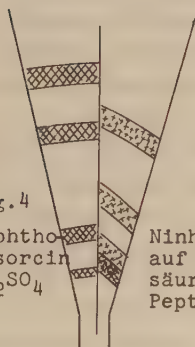


Fig. 4

Naphthoresorcin- H_2SO_4 Ninhydrin auf Aminosäuren u. Peptide

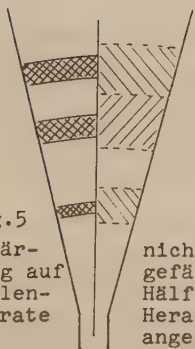


Fig. 5

Anfärbung auf Kohlenhydrate nicht angefarbte Hälfte, zum Herauskratzen angezeichnet

im Keilstreifen aufgetragen, die Vergleichssubstanz in verhältnismäßig konzentrierter Lösung als Tupfen (B) am Rand. Da eine Vermischung erfolgt, sind Testsubstanz und Probe exakt den gleichen Bedingungen bei der Chromatographie ausgesetzt; geringste Abweichungen der R_F -Werte oder Farbnuance sind deutlich feststellbar. Zudem zeigt das Keilstreifenverfahren an sich bereits bessere Trennungen, als sie sich bei punktförmigem Auftrag auf die ungeteilte Platte ergeben. Größere Abstände zwischen den einzelnen Substanzen bei zu geringen R_F -Werten werden wie üblich im Durchlaufverfahren erreicht (besonders Fließmittel (e) und (g), S.22).

Um eine Anfärbung ein und derselben Bande mit zwei unterschiedlichen Farbreagenzien zu erreichen, wurde der Keilstreifen nach dem Entwickeln und Abdampfen des Fließmittels längs halbiert und beim Sprühen jeweils eine Hälfte abgedeckt (Fig. 4).

War eine Nachweisreaktion auf der Platte nicht möglich, so wurde ähnlich verfahren: Der auf der einen Hälfte durchgeführte Kohlenhydratnachweis läßt die Lage der Banden erkennen, die Gegenseite wird entsprechend angezeichnet und das Kieselgel mit dem unversehrten Zucker herausgekratzt. Nach der Extraktion mit Wasser kann man die üblichen chemischen Identifizierungen im Reagensglas vornehmen (Fig. 5).

Entsprechend wurden die quantitativen Bestimmungen durchgeführt. Es hatte sich als am vorteilhaftesten erwiesen, die 20 x 20 cm großen Chromatographieplatten in drei Keilstreifen von 18 cm Länge und 6 cm oberer Breite einzuteilen. Die Auftragsmenge je Keilstreifen lag für die 0,25 mm starken Schichten bei ca. 50 bis 250 μ g Glucoseäquivalente je nach der Zusammensetzung des Kohlenhydratgemisches. Die Extraktion aus dem Kieselgel erfolgte in spitzen Zentrifugengläsern mit 0,75 ml A. dest., die Proben wurden kurz erhitzt, geschüttelt und zentrifugiert. Mit einer 0,5-ml-Pipette konnte ein adäquater Anteil für die Bestimmung entnommen werden. Gemäß der Auftragsmenge lagen die Werte gewöhnlich zwischen 2 und 20 μ g. Die Neutralzucker waren voneinander getrennt, enthielten aber zum Teil noch Beimengungen von Aminosäuren und Intermediärprodukten. Zur Bestimmung wurde meist die Anthronreaktion benutzt, die den Anforderungen an Spezifität und Empfindlichkeit am besten entsprach.

Das ausgearbeitete Verfahren hat sich über die zahlreichen Bestimmungen bewährt. Die Werte waren durchwegs gut reproduzierbar; der relative Fehler nimmt mit dem fallenden Anteil eines Zuckers am Gemisch stark zu, was aber im Rahmen eines Überblicks über den Kohlenhydratgehalt ohne große Bedeutung ist.

Die Grenze des Erfassbaren ist bei ca. 1 bis 2 % des Gesamtzuckers erreicht und liegt je nach den Trennungsbedingungen für die einzelnen Kohlenhydrate etwas verschieden.

Bestimmungsreaktionen

Der einfachen Handhabung wegen wurden durchweg Farbreaktionen benutzt. Die Extinktionen konnten an einem Zeiß-Spektralphotometer gemessen werden. Um die höchste Empfindlichkeit zu erreichen, wurden die Bestimmungen in möglichst kleinen Volumina durchgeführt.

Anthronreaktion nach ROE, verändert (s. S. 17)

Osazonreaktion nach GRASSMANN et al. 1957

hochspezifisch für freie oder N-glykosidisch gebundene Aldehyd- oder Ketogruppe der Kohlenhydrate, auch Aminosucker; die Osazone können mit Isopropanol-Benzol ausgeschüttelt werden.
1 μ g Glucose in 1,5 ml Endvolumen ergibt eine Extinktion von ca. 0,030 bei 395 nm.

Orcinolreaktion nach MEJBAUM, aus Keil-Šormová

spezifisch für Pentosen

1 μ g Xylose in 1 ml Endvolumen ergibt eine Extinktion von ca. 0,035 bei 600 nm.

Zuckerphosphate

Abtrennung nach SOMOGYI, modifiziert nach NELSON aus Hinsberg-Lang

Bestimmung mit Anthron

Die Abtrennung hat sich im Test mit verschiedenen Zuckerphosphaten als vollständig erwiesen. Die Ergebnisse an den untersuchten Extrakten waren gut reproduzierbar. Angabe in Glucoseäquivalenten.

Aminozucker nach BOAS aus Hoppe Seyler, BOAS (1953)

Die Abtrennung erfolgte an Dowe -50; das N-Acetylhexosamin wird nicht absorbiert, es kann im wäßrigen Eluat bestimmt werden. Die Proben wurden im Vakuum eingedampft und dann auf das erforderliche Volumen aufgefüllt.

Hexosaminbestimmung: nach ELSON und MORGAN (1933)

gute Spezifität, 1 μ g Glucosamin $\cdot$ HCl in 2,5 ml Endvolumen ergibt eine Extinktion von ca. 0,022 bei 530 nm.

N-Acetylhexosamin: nach AMINOFF, MORGAN und WATKINS (1952)

gute Spezifität, 1 μ g N-Acetylglucosamin in 5 ml Endvolumen ergibt eine Extinktion von ca. 0,015 bei 585 nm unter Verwendung einer 2-cm-Küvette.

Galaktosamin zeigt bei gleicher Menge weitaus niedrigere Werte.

Bei diesen Verfahren ist mit einem Fehler von 5 % zu rechnen.

Hexuronsäuren nach STARY und YUVANIDIS (1953)

Es konnte keine Reaktion mit ähnlichen Konzentrationen anderer Zucker gefunden werden. Die Bestimmung wird als spezifisch angegeben.

1 μ g Glucuronsäure in 1,5 ml Endvolumen ergibt eine Extinktion von ca. 0,015 bei 580 nm.

Auch diese Bestimmung ergibt ca. 5 % Fehler, wenn sie mit reinen Substanzen durchgeführt wird.

Nach DISCHE (1962) und nach eigenen Versuchen wird auch mit gebundenen Hexuronsäuren eine Farbreaktion erzielt. Der ausschüttelbare Farbstoff erscheint offenbar nur bei den unter den Reaktionsbedingungen hydrolysierenden (ca. 3,5 n HCl, 30 min 100 °C) Uroniden je nach Extraktionsmittel rein blau bis violett. Ein Teil der Uronide der Fraktion I (vergl. S. 41) sowie der größte Teil der Uronsäurehaltigen Polysaccharide hydrolysiert auch in starker

Säure nicht vollständig. Die erhaltenen Farbstoffextrakte werden braunstichig. DISCHE (1962) weist darauf hin, daß die unter diesen Bedingungen erzielten Ergebnisse quantitativ nicht mehr sicher auszuwerten sind. Die folgenden Angaben besonders für die Fraktion II und III sollen daher nur als Orientierung dienen; es sei mehr auf die relativen Größenunterschiede als auf die Absolutwerte hingewiesen.

Enzymatische Glucosebestimmung

wurde nach dem üblichen Verfahren mit einer Testkombination der Firma Boehringer (Glucoseoxydase, Peroxydase, o-Dianisidinhydrochlorid) durchgeführt.
 1 ~~mg~~ g Glucose ergibt bei 1,2 ml Endvolumen eine Extinktion von ca. 0,060 bei 546 nm.

4.4 Berechnung der Kohlenhydratkonzentrationen

Zu den ausgewählten drei Zeitpunkten wurde nach der Bestimmung des Frisch- und des Trockengewichts an den verschiedenen Organextrakten der männlichen und weiblichen Tiere zunächst die Menge der anthronpositiven Substanzen in den Fraktionen I - III bestimmt. Der Kohlenhydratgehalt der Fraktion IV konnte wegen des starken Peptidgehaltes dieser Probe nur mit Hilfe der Osazonbestimmung gemessen werden. Die Angaben erfolgen in mg Glucoseäquivalenten pro g Frischgewicht.

Die Anthronbestimmung, bezogen auf das Frischgewicht, diene als Bezugsbasis für die Berechnung aller übrigen Zucker. Die Bestimmung der Zuckerderivate und die enzymatische Glucosebestimmung wurde im Vergleich zur Anthronreaktion durchgeführt. Die einzelnen Neutralzucker wurden unter Benutzung der Glucose als "innerer Standard" nach folgender Formel als Prozent der gesamtanthronpositiven Substanzen errechnet:

Menge des chromat. bestimmten Zuckers	Prozent enzym. bestimmte Glucose der gesamtanthronpositiven Substanzen
Menge der chromat. bestimmten Glucose	

Auch Hexuronsäuren und Amino Zucker wurden der Anschaulichkeit

halber in Prozent der gesamtanthronpositiven Substanzen angegeben (vergl. S. 34-38, Tab. 7a und b).

Bestimmung:

Frischgewicht - Anthronreaktion

Anthronreaktion - Osazonreaktion

- Zuckerphosphate

- Hexuronsäuren

- Aminosucker

- Glucose, enzymatisch

- einzelne Neutralzucker, chromatographisch bestimmt

Der Bindestrich deutet an, auf was die jeweilige Bestimmung bezogen ist.

Bei den Polysacchariden (S. 37, Tab. 7b) wurde die Summe der Neutralzucker unter Berücksichtigung ihrer spezifischen Extinktionen gleich den gesamtanthronpositiven Substanzen gesetzt. Hinzu addiert wurden die Zuckerderivate, die keine Anthronreaktion ergeben (s. Tab. 7b, Spalte 2). Diese Addition wurde bei der Fraktion I nicht durchgeführt, weil in der Summe der chromatographisch bestimmten Zucker die Glykopeptide u. ä. fehlen, die bei der summarischen Anthronbestimmung miterfaßt werden. Sie wären erst nach Hydrolyse den hier benutzten Chromatographieverfahren zugänglich.

In den weiter gereinigten Extrakten wurde das Verhältnis der Zuckerderivate und der Glucose zu den anthronpositiven Substanzen bestimmt. Um einen Überblick über den Anteil der freien Kohlenhydrate zu erhalten, wurde auch in der Fraktion I die Osazonbestimmung durchgeführt. Die nach der chromatographischen Abtrennung gemessenen Neutralzucker wurden jeweils in ihrem Mengenverhältnis zur Glucose erhalten. Nachdem die relativen Mengenverhältnisse der isolierten Zucker bekannt waren, konnten mit Hilfe des Wertes für die Gesamtkonzentration der anthronpositiven Substanzen die Absolutmengen der einzelnen Zucker errechnet werden.

Zunächst ist die Fraktionierung selbst zu betrachten: Um die Kohlenhydrate möglichst vollständig zu erfassen, mußte in Kauf genommen werden, daß die Extrakte noch verschiedene Begleitstoffe enthalten. So waren in der Fraktion I außer den Mono- und Oligosacchariden und allen niedermolekularen Zuckerderivaten vor allem noch Salze, Aminosäuren und Peptide sowie die alkohollöslichen Intermediärprodukte des Stoffwechsels zu erwarten. Dem mußte durch die Spezifität der Bestimmungsreaktionen Rechnung getragen werden. Die Kriterien der einzelnen chemischen Reaktionen sind bereits S.26f. angeführt worden.

Jedoch bedarf die Messung der Neutralzucker nach vorheriger chromatographischer Trennung einer genaueren Betrachtung: Das Verfahren ist sehr anschaulich. Schon aus dem Chromatogramm lassen sich die Mengenverhältnisse der einzelnen Banden abschätzen, so daß grobe Fehler - etwa durch schief gelaufene Banden oder störende Substanzen - ausgeschlossen werden. Eine Prüfung des Verfahrens durch Vergleich verschiedener chemischer Bestimmungen (Anthrone-reaktion - Osazonreaktion - enzymatische Glucosebestimmung) verlief auch bei komplexen Gemischen sehr zufriedenstellend. Auf die gleiche Weise wurde (bei Hämolymphe und Schwanzmuskel) festgestellt, daß sich bei den verschiedenen Reinigungsschritten, auch wenn sie in bezug auf die Absolutmenge nicht quantitativ durchgeführt wurden, das Verhältnis der einzelnen Kohlenhydrate zueinander nicht verändert.

Die Berechnung der chromatographisch erfaßten Neutralzucker auf der Grundlage der enzymatischen Glucosebestimmung bedingt eine Unregelmäßigkeit in den Ergebnissen: Werden alle einzeln erhaltenen Zucker unter Berücksichtigung ihrer spezifischen Extinktionen der Anthrone-reaktion addiert, so ergibt sich nicht unbedingt genau der vorher insgesamt bestimmte Wert (s. Tab.7a Spalte 16). Die Addition enthält den Fehler jeder Einzelbestimmung, so daß die angeführten Prozentwerte mit meist 95 bis 105 % als gutes Ergebnis genommen werden können.

Darüber hinaus kommen insbesondere bei der Mitteldarmdrüse und der Hämolymphe weitaus größere Abweichungen vor: Offenbar ist von den im Extrakt vorhandenen anthronpositiven Substanzen ein Teil bei der Chromatographie nicht erfaßt worden. Es handelt sich hierbei vermutlich um Verbindungen der Zucker mit anderen niedermolekularen Substanzen oder chemischen Gruppen mit entsprechender Löslichkeit, die jedoch unter den gewählten Bedingungen im Chromatogramm nicht in Erscheinung treten.

Auch die Osazonreaktion (Tab. 7a, Spalte 15) kann als Kontrolle gewertet werden. Die Übereinstimmung hält sich in den gleichen Grenzen, die größten Abweichungen liegen wiederum in der Mitteldarmdrüse. Eine Verschiebung innerhalb der beiden Differenzbeträge scheint anzudeuten, daß die nicht erfaßten Kohlenhydrate bei den "Herbsttieren" im wesentlichen o-glykosidisch gebunden sind, im Frühjahr dagegen fast durchweg die Osazonreaktion ergeben.

Ein Hinweis auf die Ursache der Abweichungen im allgemeinen ist den Werten des Schwanzmuskels und auch des Herzens zu entnehmen. Beide Organe zeigen bei geringem Lipidgehalt gut fällbare Proteine und einen verhältnismäßig geringen Anteil an störenden Intermediärprodukten. Entsprechend ergeben die Kontrollen im Mittel eine Abweichung von nur 1,4 % (Muskel) beziehungsweise 2,5 % (Herz). Die Bestimmungen an den übrigen Organen sind meist mit größeren Fehlern behaftet.

Insgesamt darf von dem beschriebenen Verfahren erwartet werden, daß alle in genügend hoher Konzentration im Flußkrebs vorkommenden Kohlenhydrate aufgefunden und mit einer für einen derartigen Überblick ausreichenden Genauigkeit einzeln oder summarisch bestimmt wurden. Nicht berücksichtigt werden konnten Zuckerderivate, die auch nach Hydrolyse nicht reduzierend wirken wie Zuckeralkohole oder Onsäuren. Sie treten mit den verwendeten Anfärbereagenzien nicht in Erscheinung.

Ergebnisse in tabellarischer Übersicht

Die Werte aus der summarischen Bestimmung der Neutralzucker im Jahrescyclus und der detaillierten Analyse der drei Kohlenhydratfraktionen der einzelnen Organe des Flußkrebsses zu drei verschiedenen Zeitpunkten werden zunächst in den Tab. 6 und 7 vorgelegt. Die Tab. 7 wird durch die Angabe der Trockengewichtsanteile der verschiedenen Gewebe ergänzt. Die folgende Diskussion (s.S. 38) stützt sich im wesentlichen auf diese Tabellen. Zusätzlich sind die Werte aus der summarischen Osazonbestimmung der niedermolekularen, proteingebundenen Zucker (S. 52, Tab. 8) und die Untersuchungen an gehälterten Tieren (S. 89) zu beachten. Gelegentlich wird auf verschiedene nicht systematisch auszuwertende Ergebnisse von Vorversuchen zurückgegriffen.

Datum der Untersuchung Geschlecht	15.6. - 30.8.65		10. - 20. 10. 65	
	♂	♀	♂	♀
Mitteldarmdrüse	20,8	22,9	21,2	26,5
Schwanzmuskel	17,9	17,5	17,9	18,5
Carapax	16,7	15,2	68,5	79,0
Herz	12,7	12,0	11,6	12,4
Kiemen	12,4	12,4	12,2	13,3
Enddarm	19,7	16,6	22,8	22,8
Magen	14,1	13,1	14,3	16,4
Antennendrüse	13,8	14,2	14,6	14,4
Nervensystem	16,7	17,2	15,6	12,8
Hämolymphe	7,9	7,9	8,5	9,8
Epidermis	18,6	17,4	17,2	20,4

Tab. 5: Trockengewichte der einzelnen Gewebe in Prozent des Frischgewichts.

Datum Fraktion	15.6.-30.8.1965			10.-20.10.1965			29.11.1965			1.2.1966		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
Mdd. ♂	5,3	0,86	0,52	8,3	1,3	0,60	11,3	9,5	6,5	9,8	2,7	1,5
♀	3,6	0,56	0,43	3,9	1,1	0,43	6,5	7,0	3,3	6,1	1,5	0,87
Schw.	2,8	0,10	0,52	6,9	0,18	0,17	7,9	0,18	2,0	8,6	0,57	2,5
	2,7	0,13	0,42	9,1	0,30	0,25	4,4	0,13	1,3	3,9	0,30	0,51
Carap.	4,2	0,13	1,8	0,34	0,10	0,40	0,46	0,24	0,06			
	4,4	0,28	1,8	0,26	0,02	0,23	0,50	0,20	0,06			
Herz	11,5	7,4	5,2	3,7	13,7	1,4	4,1	49,2	7,9	2,7	18,7	7,4
	11,9	4,3	4,5	1,8	15,6	1,5	3,6	58,1	9,4	1,4	16,2	6,2
Klennen	1,5	0,15	0,52	2,4	0,35	0,98	3,2	2,7	2,1	3,3	2,3	2,7
	1,3	0,17	0,52	2,4	0,22	0,78	2,2	2,1	1,6	2,5	1,5	1,5
E.Darm	6,0	1,10	1,15	7,1	6,0	1,5	8,8	13,5	9,9	8,2	9,0	3,4
	4,6	1,10	1,15	5,8	4,6	1,34	6,9	16,5	6,1	13,9	7,6	4,2
Magen	5,1	0,73	0,83	11,4	5,1	1,2	9,1	5,0	4,3	11,0	8,6	5,7
	6,3	0,85	1,10	14,0	3,1	1,6	11,9	9,8	3,6	20,2	17,2	7,9
Antdr.	2,5	0,53	0,61	3,4	0,85	0,99	5,8	5,6	2,2	6,8	6,4	2,9
	3,4	0,64	0,47	3,0	3,3	1,05	5,2	12,5	3,7	6,1	10,2	4,6
N.-S.	5,4	0,74	0,90	6,9	3,0	1,10	3,8	4,6	3,5	4,5	0,7	5,4
	6,0	1,3	0,91	4,1	7,4	0,67	3,5	5,1	3,5	7,3	0,7	7,7
Hämol.	5,7	3,6	5,0	10,3	0,83	6,5	4,3	1,5	5,9	7,2	7,2	6,2
	7,1	4,9	3,5	8,9	1,8	6,0	3,2		11,6	6,4	8,8	8,0
Epid.	8,7	6,3	2,5	11,2	4,2	2,4	5,3	0,50	2,4	5,4	7,3	5,6
	9,5	9,5	3,0	5,4	3,0	2,9	5,4	0,96	2,9	4,1	1,6	2,1
Hoden	2,0	0,51	0,30	3,2	0,79	0,81	2,2	0,84	1,12	4,4	0,64	1,0
Ovar	3,3	0,63	0,40	0,92	0,40	4,0	0,47	0,65	3,8	1,0	0,68	7,3

Tab. 6 : Jahrescyclische Veränderungen der Kohlenhydratkonzentrationen in den einzelnen Organen
 Angabe in mg Glucoseäquivalente / g Frischgewicht; außer Hämolymphe: mg Gl.-Äquiv./100 g.
 Glucoseäquivalente nach Anthronmethode

Datum Fraktion	4./29.3.1966			11.4.1966			20.5.1966			Vorhäutung		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
Mdd. ♂	3,8 2,3	2,6 1,1	6,0 2,2	3,0 3,3	0,91 0,60	0,58 0,70	2,0 2,7	0,43 0,80	0,76 0,78	4,8 7,8	0,65 1,10	0,35 0,21
Schw. ♀	13,8 0,20	0,35 0,07	4,4 0,30	0,31 0,45	0,03 0,03	0,13 0,08	2,5 0,68	0,84 0,05	0,34 0,13	2,9 2,2	2,9 0,98	2,0 1,3
Carap.				0,14 0,07	0,09 0,08	0,03 0,02				1,6 1,6	0,42 0,32	0,92 0,14
Herz	4,4 2,9	38,6 33,0	6,7 8,9	1,3 0,36	3,3 4,4	2,9 3,1	2,5 1,7	2,2 3,5	2,6 3,2	2,3 1,4	8,6 8,1	7,4 5,9
Kiemen	2,8 1,7	1,7 1,8	2,1 1,4	0,72 0,96	0,10 0,27	0,41 0,92	1,5 1,5	0,35 0,34	0,87 0,73	2,7 2,8	0,80 0,70	1,3 1,14
E.Darm	4,6 3,5	6,3 6,2	3,7 3,2	1,1 2,3	0,43 0,56	0,59 0,86	3,3 3,1	1,9 1,15	1,6 1,4	8,3 7,5	3,4 2,9	1,8 1,6
Magen	6,4 8,5	6,5 8,7	3,0 3,8	0,47 2,5	0,13 0,91	0,14 1,1	6,5 6,1	4,1 2,8	1,9 1,8	7,6 11,8	4,3 2,9	2,0 0,82
Antdr.	6,7 4,9	5,3 4,5	4,0 3,4	1,4 3,1	0,29 0,90	0,14 1,6	1,3 2,2	0,15 0,18	0,41 0,64	4,1 5,5	0,74 1,12	1,3 1,3
N.-S.	25,6 4,2	1,9 2,1	5,1 2,7	2,1 4,1	0,25 0,81	0,7 2,4	8,1 19,4	0,47 0,36	2,0 1,5	7,3 6,8	0,20 0,24	3,0 4,8
Hämol.	7,9 4,1	1,7 3,0	2,3 2,2	0,62 1,2	0,01 0,99	0,08 1,1	3,1 4,2	1,8 0,83	1,8 2,7	6,1 7,0	3,7 8,1	10,9 8,3
Epil.	3,9 2,7	5,9 6,8	2,4 2,3	1,4 1,5	0,69 1,25	1,0 2,0	3,3 3,1	1,4 0,96	1,4 1,5	7,0 8,3	3,8 3,2	2,6 3,1
Hoden Ovar	3,0 0,56	3,5 1,7	1,1 5,8	1,5 0,78	0,30 1,6	0,38 7,5	3,8 0,51	0,91 1,05	0,96 0,48	3,0 1,9	1,1 0,73	1,1 0,94

Tab. 7a analyse der alkohollöslichen Zucker bei männlichen und weiblichen Tieren in der Mitteldarmdrüse, dem Schwanzmuskel, der Hämolymphe, dem Carapax den Kiemen, dem Herzen, dem Magen-Enddarm, der Antennendrüse und der Epidermis.

(a) - frisch gehäutete Tiere

(b) - im Oktober

(c) - im März untersuchte Tiere.

- Spalte (1) mg Glucoseäquivalente/ g Frischgewicht (Anthrone-
methode), Hämolymphe: mg Glucoseäqu./ 100 g Frgew.
- (2) Prozent von (1) werden mit der Osazonbestimmung erhalten
 - (3) Prozent Glucose (enzymatisch) von (1)
 - (4) Prozent Zuckerphosphate (Glucoseäquivalente, Anthrone-
methode) von (1)
 - (5) Prozent Hexuronsäure (Glucuronsäureäqu.) von (1)
 - (6) Prozent N-Acetylhexosamin (N-Acetylglucosaminäqu.)
von (1)
 - (7) Prozent freies Hexosamin (Glucosaminäqu.) von (1)
 - (8) Prozent gebundenes Hexosamin (Glucosaminäqu.) von (1)
 - (9) Prozent Galaktose von (1)
 - (10) Prozent Fruktose von (1)
 - (11) Prozent Trehalose von (1)
 - (12) Prozent Maltose von (1)
 - (13) Prozent Maltotriose von (1)
 - (14) Prozent Maltotetraose von (1)
 - (15) Summe aller chromatographisch bestimmten Substanzen
unter Berücksichtigung der spezifischen Extinktio-
nen ihrer Osazone als Prozentwert der summarischen
Osazonbestimmung.
 - (16) Summe aller chromatographisch bestimmten Substanzen
(Anthrone-methode) als Prozentwert von (1).

Organ	Tiere	1	2	3	4	5	6	7	8
Mdd.	(a) ♂ ♀	5,2 3,6	81,0 85,0	41,4 48,5	9,3 10,3	20,7 19,0	6,11 4,70	0,41 0,53	0,74 0,79
	(b)	8,3 3,9	67,6 61,0	51,6 43,3	3,37 4,5	22,1 20,7	1,4 3,0	0,31 0,43	0,43 4,5
	(c)	3,8	75,6	27,9		20,0	2,7		
Schwm.	(a)	2,8 2,7	69,2 64,6	52,3 47,5	4,1 3,18	18,3 20,0	0,96 0,97	0,18 0,26	0,72 0,32
	(b)	6,9 9,1	46,9 53,0	34,4 43,3	1,80 2,90	4,6 8,6	0,26 0,39	0,09 0,10	0,39
	(c)	13,8	6,55	2,64	1,70	1,6	0,07		
Hämol.	(a)	5,7 7,2	69,0 75,7	47,5 53,8	2,57 3,10	19,5 15,8	2,92 2,30	0,65 0,50	1,34 1,15
	(b)	10,3 8,9	60,8 64,8	46,2 43,1	2,92 4,1	22,2 19,8	3,54 4,60	0,06 0,07	
	(c)	25,6	75,7	44,4					
Carap.	(a)	4,2 4,4	39,6 37,3	22,0 23,0	7,7 7,4	14,8 16,6	1,71 1,69	0,92 0,90	
	(b)	0,34 0,26	45,7 48,6	35,6 42,1	3,18 1,90	9,7 12,9	1,74 1,41	0,29 0,30	0,80 0,57
	(c)								
Kiemen	(a)	1,5 1,3	52,8 54,6	33,3 36,2	6,9 6,5	18,1 18,6	8,0 10,0	0,90 0,83	2,9 2,0
	(b)	2,4 2,4	41,5 55,4	32,2 41,2	3,9 3,8	11,1 10,3	1,68 1,85	0,29 0,37	1,52 5,64
	(c)								
Herz	(a)	11,5 11,9	34,6 24,2	17,0 10,6	2,33 2,60	6,5 6,2	0,35 0,31	0,31 0,14	0,26 0,08
	(b)	3,7 1,8	33,2 44,1	25,2 28,9	2,78 2,84	10,6 12,4	0,87 1,72	0,32 0,24	
	(c)								
Magen Darm	(a)	5,1 5,6	62,5 68,4	42,8 50,5	3,86 2,90	9,8 11,4	1,54 1,77	0,70 0,31	0,24 0,70
	(b)	10,0 11,1	46,1 43,2	34,8 32,3	2,34 2,12	7,8 6,9	0,41 0,44	0,31 0,29	0,15 0,50
	(c)								
Antdr.	(a)	2,5 3,4	33,3 32,8	21,4 20,4	2,00 1,54	11,0 8,4	2,85 4,81	0,25 0,44	0,21
	(b)	3,4 3,0	37,0 55,4	56,0 44,7	2,32 2,74	14,0 14,4	1,98 1,99	0,26 0,32	1,12 0,36
	(c)								
Epil.	(a)	8,2 9,5	43,1 32,6	25,6 20,8	6,6 6,2	7,2 7,0	1,03 1,28	0,52 0,77	0,48 0,28
	(b)	11,2 5,4	37,0 32,7	30,6 25,8	4,9 3,5	7,6 9,2	0,33 1,02	0,27 0,76	0,77 0,56
	(c)								

Tab. 7a

Organ	Tiere	9	10	11	12	13	14	15	16
Mdd.	(a) ♂	8,9	-	5,4	-	-	-	70,6	64,9
	(a) ♀	16,4	-	10,0	-	-	-	83,5	85,2
	(b)	7,6	-	9,9	-	-	-	89,4	72,5
	(c)	6,5	-	14,5	-	-	-	86,3	68,8
Schwm.	(a)	6,9	-	17,1	-	-	-	43,6	51,5
	(b)	8,4	-	20,4	12,8	-	-	96,0	98,0
	(c)	11,1	-	22,6	17,9	-	-	99,6	102,3
	(d)	13,0	-	45,6	4,6	-	-	100,5	99,4
Hämol.	(a)	5,8	-	44,4	4,4	-	-	97,9	100,8
	(b)	-	0,69	96,3	-	-	-	75,2	101,3
	(c)	8,1	-	17,8	4,2	5,8	2,8	85,8	89,8
	(d)	10,3	-	22,2	3,1	2,8	3,5	88,3	99,8
Carap.	(a)	5,8	-	28,1	2,5	4,7	5,7	89,5	105,9
	(b)	6,7	-	12,9	4,8	2,1	3,3	80,0	77,0
	(c)	-	31,4	23,2	-	-	-	100,2	98,9
	(d)	4,7	-	8,2	15,9	21,2	22,6	102,0	102,3
Kiemen	(a)	4,0	-	13,2	15,0	24,1	19,5	109,0	106,2
	(b)	8,1	-	13,6	8,2	16,4	16,1	108,0	101,2
	(c)	3,8	-	11,1	9,7	18,5	12,3	106,0	99,4
	(d)	13,3	-	9,3	14,0	24,0	15,3	108,0	116,1
Herz	(a)	7,2	-	2,4	13,5	13,5	12,7	98,2	92,0
	(b)	5,8	-	11,6	10,8	17,3	16,8	110,0	98,4
	(c)	4,2	-	10,8	7,5	18,3	13,5	96,6	99,3
	(d)	1,6	-	4,4	29,9	28,2	17,8	95,2	101,2
Magen	(a)	1,0	-	5,6	29,0	32,4	18,8	109,0	100,0
	(b)	6,9	-	23,6	9,9	25,2	10,5	118,0	104,1
	(c)	10,3	-	7,7	2,8	32,8	19,6	99,5	104,9
	(d)	7,2	-	12,3	14,2	12,9	10,3	93,2	103,6
Darm	(a)	3,7	-	12,0	17,6	9,7	10,1	92,0	106,5
	(b)	3,8	-	20,3	15,5	13,0	7,1	101,0	96,8
	(c)	3,9	-	21,0	16,3	12,3	7,3	102,0	95,2
	(d)	8,3	-	25,4	4,1	17,8	18,1	100,0	95,1
antdr.	(a)	4,6	-	42,7	5,4	12,0	9,0	87,5	94,1
	(b)	8,2	-	6,9	5,2	11,5	10,2	88,0	98,0
	(c)	6,6	-	6,1	11,2	14,1	12,8	104,0	95,5
	(d)	4,6	-	7,0	16,0	25,0	20,5	102,0	105,3
Epid.	(a)	3,3	-	6,3	13,9	31,6	25,1	109,0	104,3
	(b)	3,5	-	12,7	16,6	16,7	16,5	103,0	101,5
	(c)	7,1	-	18,4	6,2	20,5	20,6	108,0	104,3
	(d)								

Tab. 7a Fortsetzung

Organ	Frakt.	1	2	3	4	5	6	7
Mdd.	II ♂	0,86	1,46	34,2	19,8	26,4	10,7	8,9
		0,56	0,92	38,8	27,3	28,1	8,8	7,0
	(a) ♀	0,52	0,67	49,5	23,0	27,5		
		0,43						
	III	1,29	1,83	50,5	17,2	17,3	6,8	8,2
		1,10	1,88	31,0	25,3	20,4	13,2	10,1
	(b)	0,60	0,95	44,8	17,8	15,6	11,2	10,6
		0,36	0,59	32,2	25,7	25,3	9,3	8,0
	II	0,10						
		0,13						
Schwm.	(a)	0,52	0,75	50,7	10,0	27,4	6,3	5,6
		0,42	0,57	43,4	28,4	23,5	2,8	1,9
	III	0,18						
		0,30						
	(b)	0,17						
		0,25						
	II	3,63						
		5,00						
	(a)	5,05						
		3,50						
Hämöl.	III	0,83						
	II	6,5						
		6,0	10,7	46,5	6,3	11,3	11,5	24,4
	(b)	1,9	2,64	54,3	15,4	14,5	8,8	6,8
		2,1	2,87	51,0	18,5	19,4	7,2	3,9
	(a) G	0,50	0,69	42,3	30,0	20,1	3,4	4,2
		0,25	0,41	34,4	26,1	17,7	9,7	12,1
	(b) G	0,71	0,84	48,9	47,8	-	2,5	0,8
		0,69	0,89	27,0	44,5	25,2	2,3	0,8
Carap.	Kiem.	1,33	2,08	37,6	35,3	-	21,0	6,1
		1,00	1,38	44,1	38,0	-	13,5	4,4
	(b) G	8,8	11,4	57,6	10,3	26,6	1,8	3,7
		12,5	14,3	65,2	6,8	25,4	0,8	1,8
	(a) G	6,6	7,4	68,0	13,4	13,5	2,4	2,7
		5,9	8,0	38,0	21,1	30,9	4,8	5,2
	(b) G							
	Epid.							

Organ	Frakt.	1	2	3	4	5	6	7
Herz	II ♂	7,40	7,53	98,2	-	-	0,3	1,5
		4,28	4,37	98,0	-	-	0,1	1,9
	(a) III	5,20	6,09	85,5	-	-	2,5	12,0
		4,50	5,10	88,4	-	-	2,3	9,3
	(b) II	13,7	14,1	97,6	-	-	0,5	1,9
		15,6	16,0	97,3	-	-	0,6	2,1
Magen Darm	III	1,43	1,48	96,3	-	-	0,4	3,3
		1,50	1,54	97,1	-	-	0,5	2,4
	(a) II	0,81	0,91	75,9	16,5	-	5,0	2,6
		0,98	1,13	73,3	19,2	-	4,0	3,5
	III	0,90	1,10	70,1	15,7	-	8,5	5,7
		1,02	1,31	74,1	15,6	-	5,8	4,5
Antdr.	(b) II	5,30	5,78	78,3	18,2	-	0,9	2,6
		3,56	3,88	77,5	19,1	-	1,1	2,3
	III	1,28	1,43	77,0	16,6	-	3,5	2,9
		1,38	1,55	77,4	15,9	-	4,6	2,1
	(a) II	0,53	0,62	77,6	12,7	9,7		
		0,64	0,81	61,9	9,5	23,6	3,2	1,8
	III	0,61	0,83	43,5	21,0	35,5		
		0,47	0,67	46,4	21,6	19,2	5,6	7,2
	(b) II	0,85	1,14	45,9	18,7	35,4		
		3,26	3,65	57,7	20,2	22,1		
	III	0,99	1,27	59,6	8,0	29,6	0,9	1,9
		1,05	1,31	49,6	9,5	38,0	1,0	1,9

Tab. 7b Analyse der Polysaccharidhydrolysate der Fraktionen II und III der männlichen und weiblichen Tiere in den genannten Organen. (a) - frisch gehütete, (b) - im Oktober untersuchte Tiere.

- (1) mg Polysaccharid (Glucoseäquivalente nach Anthronmethode) pro g bez. pro 100g Frischgewicht (Hämolymphe);
- (2) mg insgesamt erfaßtes Polysaccharid, Bezugsbasis wie vor;
- (3) Prozent Glucose von (2)
- (4) Prozent Galaktose von (2)
- (5) Prozent Fucose von (2)
- (6) Prozent Hexosamin (Glucosaminäquivalente) von (2)
- (7) Prozent Hexuronsäure (Glucuronsäureäquivalente) von (2)

Diskussion der Ergebnisse

Die Kohlenhydratkonzentrationen in den verschiedenen Organen des Flußkrebses wurden in geringen zeitlichen Abständen mit einem einfachen summarischen Verfahren gemessen (Tab. 6). Detaillierte Untersuchungen über die Zusammensetzung der Kohlenhydrate an wenigen, gut definierbaren Stadien (Tab. 7) sollten eine Interpolation für den ganzen Jahrescyclus ermöglichen. Die unerwartet starken qualitativen Änderungen (s. S.56) erfordern allerdings ein wesentlich engeres Raster der aufwendigeren chromatographischen Analysen. Es muß daher vorweg bemerkt werden, daß die im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse nicht ausreichen, ein in allen Teilen vollständiges Bild vom Kohlenhydratstoffwechsel zu entwerfen.

Bei der Betrachtung der in Tab. 7 dargestellten Befunde soll zunächst die Frage nach der Natur und der möglichen biologischen Bedeutung der beim Flußkrebs aufgefundenen Kohlenhydrate erörtert werden. Es folgen ein Vergleich und eine kurze Charakterisierung der Organe und schließlich die Beschreibung der verschiedenen stoffwechselphysiologischen Vorgänge im Jahrescyclus, soweit sie mit Änderungen des Kohlenhydratgehaltes verbunden sind. Im gleichen Zuge schreitet die Darstellung von direkten Messungen von Konzentrationsverteilungen zu den auf verschiedene Weise indirekt erschlossenen Vorgängen im Stoffwechsel vor.

1. Die Kohlenhydrate: Vorkommen und biologische Funktion

1.1 Das Kohlenhydratspektrum

Der Kohlenhydratgehalt der decapoden Crustaceen ist im allgemeinen niedrig (ca 0,2 - 20 mg/g Frischgewicht). Für einen Nachweis der einzelnen Substanzen mußten entsprechend empfindliche Methoden herangezogen werden. Eine dünnschichtchromatographische Abtrennung in Verbindung mit spezifischen chemischen Farbreaktionen läßt bei genügender Vorreinigung noch weniger als 5 µg deutlich erkennen und reicht für die vorliegende Fragestellung gut aus.

Das Kohlenhydratspektrum von Orconectes limosus erwies sich mit wenigstens 14 Substanzen einschließlich der Polysaccharidbausteine

als außerordentlich vielseitig, wobei die verschiedenen Zucker zum großen Teil in vergleichbaren Konzentrationen vorliegen. Diese an sich schon beachtliche Mannigfaltigkeit ist mit einer erstaunlichen Variabilität insbesondere der Zusammensetzung der Mono- und Oligosaccharide verbunden.

Es konnten die folgenden Zucker und Zuckerderivate isoliert werden:

G l u c o s e wurde in allen Organen als freier Zucker oder als Polysaccharidbaustein in wechselnder, aber stets ausreichender Menge mit Glucoseoxydase und allen unten aufgeführten chromatographischen Verfahren identifiziert.

G a l a k t o s e bildet einen gleichmäßig geringen Anteil der freien Zucker, scheint aber in einigen Organen als Polysaccharidbaustein von wesentlicher Bedeutung zu sein. Sie wurde als reduzierender (Anilinphtalat, Osazon), nicht hydrolysierbarer (5n HCl bei 100 °C, 1 h) Neutralzucker (Ionenaustauscher) mit dem Verhalten von Aldohexosen gegenüber verschiedenen Anfärbereagenzien identifiziert. Die Anfärbungen und die Chromatographie nach (a), (d) und (f) (vergl. S. 22) sowie die Chromatographie des Osazons zeigen keine Abweichung zum Verhalten der authentischen Galaktose.

M a n n o s e macht nur einen sehr kleinen Anteil der Polysaccharidhydrolysate aus und konnte als freier Zucker nicht nachgewiesen werden. Der Nachweis erfolgte ganz entsprechend der Galaktose; das Osazon verhält sich wie Glucosazon.

F r u k t o s e zeigt sich als reduzierender, nicht hydrolysierbarer Neutralzucker, Reaktion mit o-Aminophenol-phosphorsäurereagens auf Ketosen; andere Reagenzien ergeben typische Farben. Chromatographisch wurde sie nach (a), (g) und (d) allerdings auf borsäureimprägnierter Platte isoliert und mit der Testsubstanz verglichen. Auch Fruktose ergibt das Glucosazon. Fruktose tritt nur im Frühjahr besonders im Blutzucker auf.

F u c o s e ist als reduzierender, nicht hydrolysierbarer Neutralzucker nach (a), (c), (d) und (f) chromatographisch besonders gut abzutrennen. Die typischen bunten Farben mit vielen Nachweisreagenzien ergeben weitere Anhaltspunkte. Fucose ist ein wichtiger Baustein der Polysaccharide, konnte aber als freier Zucker nicht gefunden werden.

Maltose und höhere Maltosesaccharide sind Neutralzucker mit entsprechend dem steigenden Molekulargewicht schwächer werdenden reduzierenden Eigenschaften und charakteristisch veränderten Wanderungsgeschwindigkeiten an Kieselgel G und Sephadex G-10. Die R_F -Werte entsprechen denen von Maltose und Glykogenhydrolysaten. Die Hydrolyse ergibt nur Glucose. Neben dem bekannten Tri- und Tetrasaccharid konnten nach Vortrennung an Sephadex noch 2 höhere Homologe, vermutlich das Penta- und Hexasaccharid, gefunden werden.

Die Maltosesaccharide stellen in vielen Organen einen wesentlichen Anteil der niedermolekularen Zucker, der charakteristischen Schwankungen unterworfen ist.

Trehalose ist ein nicht reduzierendes (Anilinphtalat, Benzin) Disaccharid. Es ergibt keine Osazonreaktion. Bei der Hydrolyse wird nur Glucose frei, sie erfolgt langsamer als bei den übrigen Disacchariden: Trehalose reagiert als einziger untersuchter Neutralzucker mit Anilindiphenylaminphosphat bei 110 °C nicht. Sie läßt sich chromatographisch nach allen angeführten Verfahren gut von Maltose abtrennen; die R_F -Werte entsprechen jeweils denen der authentischen α, α' -Trehalose. Der Nachweis von Trehalase in den Geweben des Flußkrebsses (JANTZEN, unveröff.) bestätigt diese Befunde.

Trehalose ist in stark wechselnder Menge in allen untersuchten Organen vorhanden. Ihr Anteil am Gesamtkohlenhydrat und ihre Konzentration besonders im Schwanzmuskel sind sehr veränderlich.

N-Acetyl-Hexosamin als wichtigster freier Amino-zucker wurde papierchromatographisch sowie nach Abtrennung der nicht acetylierten Amino-zucker an Dowex 50 nachgewiesen.

Hexosamine kommen in freier Form fast gar nicht vor, sind aber mit einem Anteil bis zu 20 % ein wesentlicher Bestandteil der Polysaccharide. In einem Hydrolysat des Mitteldarmdrüsenpolysaccharids konnte papierchromatographisch neben Glucosamin eine nicht unbedeutende Menge Galaktosamin gefunden werden.

Glucuronsäure wurde nach Vorreinigung an Sephadex G-10 als dünnschichtchromatographisch einheitliche Verbindung mit

einer ninhydrinpositiven Komponente erhalten. Nach Hydrolyse konnte freie Glucuronsäure nachgewiesen werden. Bei der quantitativen Bestimmung wurden die Hexuronsäuren gemeinsam erfaßt. Sie treten offenbar in gebundener Form in mehreren Organen in vergleichsweise hoher Konzentration auf und haben auch an den Polysacchariden einen gewissen Anteil.

Die Zuckerphosphate konnten chromatographisch nicht aufgetrennt werden. Die summarische Bestimmung ergab auch hier in Abhängigkeit vom physiologischen Zustand der Tiere deutlich schwankende Werte.

Glykopeptide finden sich besonders in der Mitteldarmdrüse und der Hämolymphe. Der in der Fraktion I vorliegende Teil ist in 80%igem Alkohol löslich und erschien als ninhydrinpositive Komponente in den Chromatogrammen. Durch Hydrolyse wurden Kohlenhydrate freigesetzt.

Es stellt sich die Frage nach dem biologischen Sinn einer solchen Mannigfaltigkeit, die zunächst auf die Frage nach der Funktion der verschiedenen Zucker im Organismus zurückgeführt werden muß. Der zweite Gesichtspunkt - die Variabilität des Kohlenhydratgehaltes und der Zusammensetzung - soll, aufgegliedert nach den Unterschieden zwischen den Organen und den Veränderungen im Jahrescyclus, in den beiden folgenden Kapiteln "Kohlenhydrathaushalt der Organe" und "Einflüsse der verschiedenen physiologischen Faktoren im Jahrescyclus auf den Kohlenhydrathaushalt" behandelt werden.

1.2

Funktionelle Betrachtung

Die Kohlenhydrate werden hauptsächlich unter dem Aspekt des Energiestoffwechsels gesehen, wobei Glucose und Glykogen im Vordergrund stehen. Über die Funktion der übrigen Zucker ist, von einigen Strukturpolysacchariden abgesehen, sehr wenig bekannt. Es soll daher zunächst von den grundsätzlichen chemischen und physikalischen Eigenschaften der aufgefundenen Kohlenhydrate ausgegangen werden. Eine Unterteilung in große Gruppen ergibt sich schon aus der vorn (s.S.18) beschriebenen Vortrennung in die Fraktionen I - IV: Die alkohol-löslichen Mono- und Oligosaccharide einschließlich der niedermole-

kularen Zuckerderivate stellen die schnell greifbare Reserve für die verschiedenen Umsetzungen der Kohlenhydrate. Die einzelnen Substanzen sind wegen ihrer geringen Molekülgröße und guten Wasserlöslichkeit meist für Transportzwecke besonders geeignet. Über die Funktion der aus verschiedenen Bausteinen zusammengesetzten, löslichen Polysaccharide ist so gut wie nichts bekannt. Neben der Deutung als Reserve- oder Strukturpolysaccharide ist hier, ebenso wie bei den proteingebundenen niedermolekularen Zuckern, an bestimmte Funktionen im Stoffwechsel zu denken.

Die systematische Betrachtung der einzelnen Substanzen beginnt mit den Zuckerphosphaten. Nahezu alle Umsetzungen der Kohlenhydrate führen über die energiereichen, reaktionsfähigen Phosphorsäureester, so daß sie als Angelpunkt des gesamten Kohlenhydratstoffwechsels aufzufassen sind. Die Zuckerphosphate wurden entsprechend dem S. 27 angegebenen Verfahren summarisch bestimmt. Die Werte für die einzelnen Organe liegen im allgemeinen zwischen 0,1 und 0,5 mg Glucoseäquivalenten/g Frischgewicht entsprechend ca. 2 - 10 % des anthronpositiven Anteils der Fraktion I (Neutralzucker + Zuckerphosphate). Besonders das Verhältnis zu den Neutralzuckern scheint - wie ein Vergleich der Werte bei männlichen und weiblichen Tieren ergibt - gut reguliert zu sein. Die Verteilung über die Organe und die Messungen an den frisch gehäuteten Tieren deuten einen Zusammenhang der Zuckerphosphatkonzentration mit der Stoffwechselintensität an. Diese Korrelation läßt sich an dem O_2 -Verbrauch der entsprechenden Gewebe prüfen. Zugrunde gelegt werden Messungen von HEINEMANN (1964) an Orconectes limosus und MCWHINNIE u. KIRCHENBERG (1962) an Orconectes virilis, s.Tab. 8.

Berücksichtigt man, daß der Kohlenhydratabbau im Schwanzmuskel glykolytisch erfolgt (KELLER, 1964) und demgemäß von freiem O_2 weitgehend unabhängig ist, so ist eine gute Übereinstimmung erreicht. Dennoch ist wegen der vielseitigen Verwendbarkeit und den damit stets unübersichtlichen stationären Konzentrationen derartiger Intermediärprodukte ein solcher Vergleich nur sehr bedingt schlüssig.

Angaben über einen Nachweis von Zuckerphosphaten, insbesondere Glucose-6-phosphat, finden sich bei HU (1958) und MCWHINNIE u.

	A: $\mu\text{l O}_2/\text{h} \cdot \text{mg Trgw.}$		B: $\mu\text{l O}_2/\text{mg lipidfrei-es Trgw.}$	C: mg Zuckerphosphate/g FrGew.
	15°C	20°C		
Mitteldarmdrüse				
intermolt	1,47	1,77	2,1	0,24
postmolt			4,4	0,45
Kiemen	1,01	1,24		0,09
Herz	0,82	1,00		0,08
Schwanzmuskulatur	0,43	0,42		0,20

Tab. 8 Vergleich des O_2 -Verbrauchs der Gewebe mit ihrem Zuckerphosphatgehalt.

A: nach HEINEMANN (1964) an Orconectes limosus

B: nach MCWHINNIE u. KIRCHENBERG (1962) an O. virilis

C: eigene Messungen.

SALLER (1960). DALL (1964) gibt einen Hinweis auf Fruktose-6-phosphat. Die von MEENAKSHI u. WANG und MEENAKSHI u. SCHEER (1961) bestimmten Werte für Glucose-6-phosphat liegen allerdings mit 15 - 20 % des Blutzuckers von Cancer ganz wesentlich über den bei Orconectes gefundenen Gesamtzuckerphosphatanteilen.

Glucose und die verschiedenen Glucosepolymere (Maltosesaccharide, Glykogen, Trehalose) können zunächst gemeinsam unter dem Aspekt der Speicherung von Bausteinen und energieliefernden Substanzen im Kohlenhydrathaushalt betrachtet werden. Inwieweit gesonderte Funktionen, insbesondere der Trehalose, vorliegen, soll später geprüft werden.

In einem Hydrolysat der Fraktion I nimmt die Glucose in allen Organen einen annähernd konstanten Anteil von ca. 90 % der Neutralzucker ein (vergl. Tab. 7a). Die Veränderungen im Laufe des Jahres beziehen sich entweder auf die Gesamtkonzentration der glucosehaltigen Substanzen oder auf deren Verhältnis zueinander. Die Gesamtkonzentration in den Organen liegt im allgemeinen zwischen 1 und 10 mg Glucoseäquivalente/g Frischgewicht, wobei der Anteil der freien

Glucose nie wesentlich über 50 % hinausgeht. Die Maltosesaccharide können dagegen zu bestimmten Zeiten, z. B. im Herzen, sehr hohe Werte erreichen (um 80 %), aber auch ganz fehlen. Ebenso ist der Trehaloseanteil von Organ zu Organ und in Abhängigkeit von dem physiologischen Zustand der Tiere sehr veränderlich (5 - 95 %).

Die Ergebnisse entsprechen im Ganzen den qualitativen Befunden von HU (1958), MCWHINNIE u. SALLER (1960), MEENAKSHI u. WANG und DEAN u. VERNBERG (1965 b). HANSEN (1964) fand neben anderen Disacchariden Maltose auch in der Hämolymphe von Insekten, doch scheint hier ein Vergleich mit der viel allgemeineren Bedeutung der Maltosesaccharide bei den Crustaceen nicht möglich. Die Bedeutung der Glucose im Stoffwechsel der Decapoden wurde erst in den letzten Jahren durch Tracer-Versuche (HU, 1958; HOCHACHKA, TEAL u. TELFORD, 1962; BERGGREEN, MEENAKSHI u. SCHEER, 1961) und den Nachweis der Enzyme der Glykolyse und des Citronensäurecyclus (bes. KELLER, 1964) geklärt.

MEENAKSHI u. SCHEER (1961) untersuchten die Funktion der M a l t o s e o l i g o s a c c h a r i d e im Stoffwechsel von Cancer magister und Hemigrapsus nudus. Sie versuchten darzulegen, daß der normale Aufbauweg des Glykogens über die Maltosesaccharide führt. Hierzu würde passen, daß bei O. limosus auch noch höhere Maltosesaccharide als das bisher bekannte Tetramere gefunden wurden. Eine derartige Interpretation steht jedoch im Gegensatz zu der üblichen Annahme der Polysaccharidsynthese an Startermolekülen. Es scheint eine Eigenart der Crustaceen zu sein, daß Glucosebausteine nicht nur in Form des hochpolymeren Glykogens, sondern auch als niedermolekulare Oligomere gespeichert werden können. Zumindest einige Gewebe des Flußkrebsses enthalten maltosespaltende Enzyme (JANTZEN, unveröff.).

Über das Vorkommen der T r e h a l o s e bei decapoden Crustaceen liegen nur die unsicheren Angaben von FAIRBAIRN (1958), MCWHINNIE u. SALLER (1960), TELFORD (1965) sowie DEAN u. VERNBERG (1965 b) vor. Keines der von den vorgenannten Autoren verwendeten Chromatographieverfahren erlaubt eine Abtrennung der Trehalose von den reduzierenden Disacchariden, insbesondere der Maltose. Dagegen ist das Vorkommen von Trehalose bei Insekten (WYATT u. KALF, 1957)

und Insektenlarven (ASAHINA u. TANNO, 1964; GREEN, 1965), Artemia (DUTRIEU, 1959) und Nematoden (LEE, 1965) gesichert.

Es wurden verschiedene Deutungen für die Funktion der Trehalose vorgeschlagen: Der zunächst von TREHERNE (1958) nachgewiesene Zusammenhang mit der Glucoseresorption bei Insekten ist nur in Verbindung mit einer sehr niedrigen Glucosekonzentration sinnvoll und scheidet daher für die Crustaceen aus. Auch die Organverteilung der Trehalose würde dem nicht entsprechen.

Als Reservestoff charakterisieren DUTRIEU (1959) und CLEGG (1965) die Trehalose bei ihren Untersuchungen an Artemiaeiern. CLEGG (1965) erklärt die Vorteile der Trehalose durch ihre gute Wasserlöslichkeit bei fehlendem Reduktionsvermögen und hoher Stabilität. Ebenso erklärt LEE (1965) den Trehalosegehalt der Nematoden; CLEGG u. EVANS (1961) stellen fest, daß Dipteren bei andauerndem Flug Trehalose veratmen.

Das Vorhandensein besonders hoher Glycerin- und Trehalosekonzentrationen in frostresistenten Insektenlarven und Artemiadaueriern wird von ASAHINA u. TANNO (1964) und GREEN (1965) hervorgehoben. ASAHINA u. TANNO (1964) weisen auf die allgemeine Bedeutung niedermolekularer, neutraler Substanzen für die Kälteresistenz auch bei Pflanzen hin.

LIPKE, GRAVES u. LETO (1965b) stellen durch Tracer-Versuche an Periplaneta fest, daß neben Glucose nur noch die Trehalose unter den Neutralzuckern als Vorläufer für das Chitin in Frage kommt. Eine lockere Verbindung zwischen dem Vorkommen von Chitin und Trehalose scheint allgemein zu bestehen.

VILLENEUVE u. LEMONDE (1965) fanden Trehalose als Komponente eines Trisaccharids, NARUMI u. TSUMITA (1965) als Baustein von Bakterienpolysaccharid. Offensichtlich reagieren glykosidische Halbacetale mit den Alkohol-Hydroxylen der Trehalose weiter, so daß eine Deutung als Zwischenstufe für höhere Polymere möglich wird. Alle diese Deutungen schließen sich gegenseitig nicht aus.

Die Trehalose dient beim Flußkrebis vermutlich der Speicherung unter bestimmten physiologischen Bedingungen oder zu bestimmten Zwecken. Es wird eine Abtrennung der gespeicherten Glucoseeinheiten von dem System Glucose - Maltosesaccharide - Glykogen erreicht. Eine genauere Erörterung der Verhältnisse soll bis zur Diskussion der Verhältnisse im Schwanzmuskel (S.60) aufgeschoben werden. Im Schwanzmuskel konnte die höchste Trehalosekonzentration gefunden werden.

Das angedeutete System der Glucosespeicherung in Substanzen verschiedenen Polymerisationsgrades (unterschiedlich rascher Abbau zu Glucose, unterschiedliche osmotische Aktivität) mit dem Seitenweg der Trehalose scheint nach den bisher vorliegenden Angaben nur bei den Crustaceen vorzukommen.

Freie G a l a k t o s e ist bei den Crustaceen verbreitet (MCWHINNIE u. SALLER, 1960; MEENAKSHI u. WANG, 1961; TELFORD, 1965; DEAN u. VERNBERG, 1965 b), sonst aber kaum im Tierreich zu finden (nur Mollusken, WEHLAN, unveröff.). Bei Orconectes limosus macht sie etwa 5 - 10 % der alkohollöslichen Neutralzucker in allen Organen aus, kann aber im Frühjahr ganz fehlen. Hinweise über die Funktion der freien Galaktose liegen nicht vor und lassen sich auch weder aus der Organverteilung noch aus Veränderungen im Jahreszyklus ableiten.

Die F r u k t o s e tritt offenbar nur im Frühjahr auf. Sie macht dann etwa 30 % des Blutzuckers aus und läßt sich in geringen Mengen auch im Schwanzmuskel nachweisen. In der Mitteldarmdrüse scheint sie zu fehlen, die übrigen Organe konnten zu diesem Zeitpunkt nicht untersucht werden. Völlig unklar ist die Bedeutung dieser Ketose, die im Tierreich mit Ausnahme der Phosphorsäureester kaum Verbindungen eingeht. Neben dem bekannten Vorkommen bei Säugetieren im Zusammenhang mit der Fortpflanzung ist Fruktose bei Insekten verschiedentlich nachgewiesen worden (FLORKIN u. JEUNIAUX, 1964; VILLENEUVE u. LEMONDE, 1965).

Freie F u c o s e konnte entgegen den Befunden von MEENAKSHI u. WANG (1961) und DEAN u. VERNBERG (1965 b) im Flußkrebis nicht gefunden werden.

Die Amino Zucker der Fraktion I liegen fast ausschließlich als N-Acetylhexosamin vor. Die Konzentration ist mit weniger als 0,3 mg/g Frischgewicht entsprechend 0,1 - 6 % der Neutralzucker der Fraktion I niedrig. Die höchsten Werte werden von der Mitteldarmdrüse und den Kiemen erreicht. Im Zusammenhang mit der Häutung wird auch der Gehalt an freiem N-Acetylhexosamin erhöht, jedoch keinesfalls in dem Maße, wie es entsprechend der quantitativen Bedeutung der Chitinsynthese zu erwarten wäre. Auch ist gerade die Epidermis nur sehr wenig betroffen.

Das N-Acetylhexosamin ist vermutlich gerade als neutrale Substanz für den Transport geeignet. Es ist frei beweglich, da es keine Verbindungen mit den geladenen Eiweißen eingeht.

Freie Aminos Zucker kommen in sehr geringer Menge vor (>1 % der Neutralzucker) und zeigen im einzelnen keine deutlichen Veränderungen. Dasselbe gilt für die alkohollöslichen gebundenen Hexosamine mit einer deutlichen Ausnahme: Die Mitteldarmdrüse und die Kiemen der weiblichen Tiere enthalten im Herbst wesentlich erhöhte Konzentrationen. Ein Zusammenhang mit der Eibildung liegt nahe (s. S.88).

Der Gesamtgehalt an niedermolekularem Hexosamin liegt für Orconectes offenbar niedriger, als es den Angaben von RENAUD (1949) für Cancer pagurus und DALL (1964) für Metapenaeus entspricht. Dagegen berichten ROCHE u. DUMAZERT (1940) über ähnliche Werte in der Hämolymphe von Cancer. Die Funktion der Aminos Zucker wurde einseitig unter dem Aspekt der Chitinsynthese nach der Häutung gesehen. Daneben ist aber die Beteiligung der Zuckerderivate an Glykoproteiden und -lipiden und besonders der unten (S.49) beschriebene Anteil an den löslichen Polysacchariden zu beachten. Nur im Hinblick auf eine derart erweiterte allgemeinere Bedeutung lassen sich die Organverteilung und die relativ geringen Änderungen der Hexosaminkonzentration nach der Häutung verstehen.

Über das Vorkommen von Hexuronsäuren bei Crustaceen konnten keinerlei Hinweise in der Literatur gefunden werden. Dennoch treten sie beim Flußkrebis in den meisten Organen in überraschend hoher Konzentration auf: 0,2 - 1,0 mg/g Frischgewicht entsprechend etwa 5 - 20 % der alkohollöslichen Neutralzucker.

Sie kommen nur gebunden vor (vergl. S.41), worin vermutlich die Ursache zu suchen ist, daß sie bisher übersehen wurden. Außerdem bleibt ein Zusammenhang mit den Uronsäuren der Polysaccharide zu beachten.

Die Polysaccharide wurden aus methodischen Gründen in eine wasserlösliche (Fraktion II) und eine alkalilösliche (Fraktion III) Fraktion unterteilt. Es konnte nicht der Sinn einer derart willkürlichen Abtrennung sein, verschiedene Polysaccharide zu unterscheiden. Dennoch ergab sich für die einzelnen Organe eine charakteristische quantitative Verteilung der beiden Fraktionen, so daß eine getrennte Darstellung gerechtfertigt ist. Die Fraktion III scheint in der Regel den höheren Zuckerderivatanteil zu enthalten. Der Polysaccharidgehalt der einzelnen Organe ist in charakteristischer Weise äußerst unterschiedlich. Die Werte liegen zwischen < 2 mg/g Frischgewicht (Schwanzmuskel, Winter) und 100 mg/g Frischgewicht (Herz, Winter) entsprechend ca. 50 % des Trockengewichts. Ebenso ausgeprägt wie die Unterschiede zwischen den Organen sind die jahreszeitlichen Veränderungen. So kann das im Winter gespeicherte Polysaccharid in Magen, Schwanzmuskel und Epidermis bis auf weniger als $1/20$ abgebaut werden.

Ein Vergleich der quantitativen Befunde mit den Literaturwerten erscheint ohne einen exakten Vergleich des physiologischen Zustandes der untersuchten Tiere sinnlos. Die Veränderungen im Kohlenhydratgehalt der Flußkrebse sind auch außerhalb der Häutung im Laufe des Jahres so groß, daß nahezu jeder Literaturwert einmal erreicht wird. Dieser Gesichtspunkt ist bisher vielfach nicht beachtet worden.

Als Bausteine der Polysaccharide wurden 7 Substanzen identifiziert: Glucose, Galaktose, Fucose, Mannose, Glucosamin, Galaktosamin (in der quantitativen Bestimmung als Hexosamin zusammengefaßt) und Hexuronsäure.

Die Literaturangaben über die Zusammensetzung der Polysaccharide (HU, 1958; MEENAKSHI u. SCHEER, 1959; KERKUT u. PRICE, 1964;

DALL, 1965 c) entsprechen durchaus den Verhältnissen bei Orconectes limosus. Mannose wurde von DEAN u. VERNBERG (1965 b) nur als Blutbestandteil identifiziert. Über das Vorkommen von Hexuronsäuren konnten wiederum keine Angaben gefunden werden.

Die Verteilung dieser Bausteine über die Polysaccharide der einzelnen Organe ist recht unterschiedlich. Glucose ist mit einem Anteil zwischen 25 und 98 % stets vorhanden und stellt beim Polysaccharid des Herzens den einzigen Neutralzucker. Das Polysaccharid des Magen-Darm-Gewebes enthält zusätzlich nur Galaktose in einem recht konstanten Anteil von 15 - 20 %. Die Polysaccharide der übrigen Organe enthalten auch Fucose (10 - 40 %). Mannose konnte nur in geringer Menge im Polysaccharid des Schwanzmuskels gefunden werden. Der Anteil der einzelnen Zuckerderivate überschreitet nur selten 10 %. Die höchsten Werte sind in der Mitteldarmdrüse, der Hämolymphe und den Kiemen zu finden. Geht man von einer bestimmten, nicht variablen Zusammensetzung der einzelnen Polysaccharide aus, so kann die verschiedenartige quantitative Verteilung der einzelnen Bausteine über die Organe nicht durch die Annahme weniger Polysaccharide - etwa des Glykogens und eines sauren Mucopolysaccharids (MEENAKSHI u. SCHEER, 1959) - erklärt werden.

Konstante Verhältnisse der Neutralzucker untereinander sind an Hand der wenigen vorliegenden Werte nicht nachzuweisen. In der Mitteldarmdrüse und z. T. auch in anderen Organen werden gleiche Anteile von Galaktose und Fucose angedeutet, es kann aber in anderen Organen sowohl Galaktose als auch Fucose deutlich überwiegen. Eine Korrelation von Hexuronsäure und Hexosamin scheint in den meisten Organen gegeben zu sein, am auffälligsten in der Mitteldarmdrüse (auch Schwanzmuskel, Magen-Darm, Epidermis) mit einem Verhältnis von 1:1, in anderen Organen auch mit anderen Quotienten (s. Fig. 6).

Die Vorstellungen über die Funktion der Polysaccharide der Crustaceen sind so unbefriedigend wie die Kenntnisse über ihren Aufbau: Das Glykogen wird allgemein als Speicherpolysaccharid für die Chitinsynthese und den Energiestoffwechsel angesehen; über das Glucose, Galaktose und Fucose enthaltende saure Mucopolysaccharid

äußerten MEENAKSHI u. SCHEER (1959) die Vermutung, daß es an der Kalkbildung beteiligt sei. Von allgemeinerer Bedeutung scheint die Beteiligung der Galaktose an verschiedenen im Tierreich vorkommenden Schleimen zu sein (z. B. BELL, 1962; HUNT, 1965). Das Vorkommen von galaktosehaltigem Polysaccharid im Magen- und Darmgewebe des Flußkrebsses würde dem entsprechen.

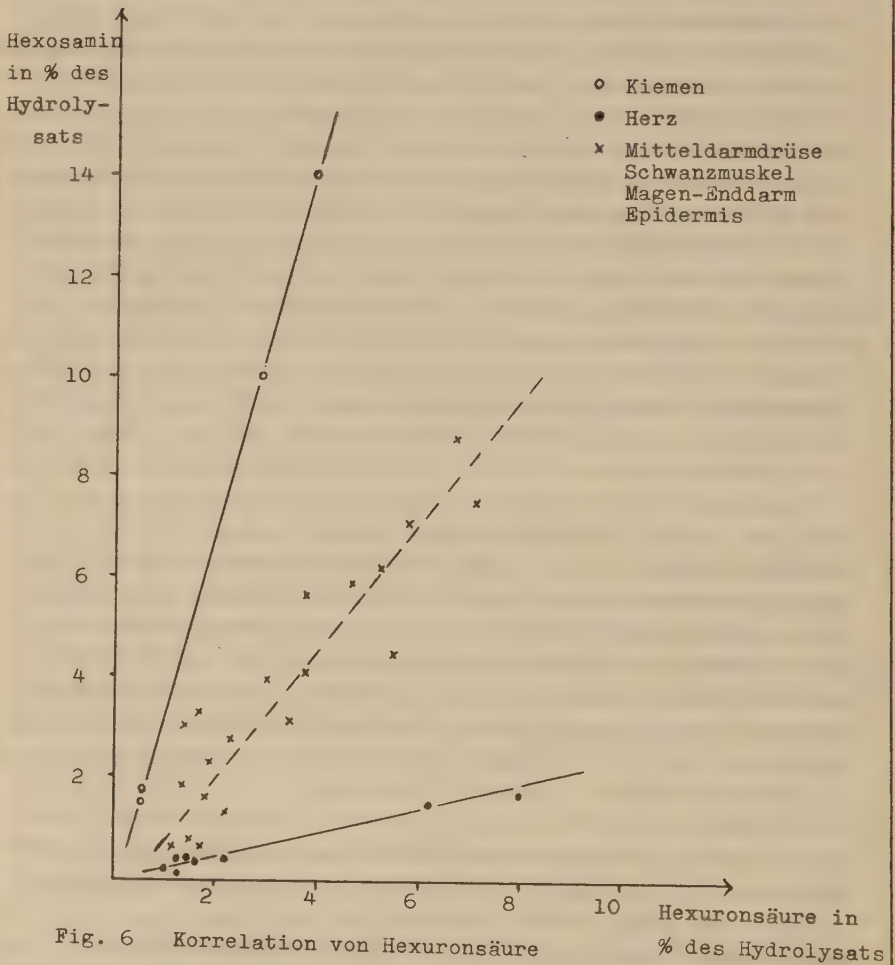


Fig. 6 Korrelation von Hexuronsäure und Hexosamin im Polysaccharid der verschiedenen Organe.

Im Gegensatz zu den bisher behandelten Fraktionen I - III konnten die proteingebundenen, alkohollöslichen Kohlenhydrate nur summarisch erfaßt werden (vergl. S.28). Die Werte zeigen für die einzelnen Organe mit Ausnahme des stets niedrigeren Kohlenhydratgehaltes der Hämolymphe keine großen Schwankungen. Noch geringer sind die Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Tieren und die Veränderungen von der Häutung bis zum Herbst.

Organ	frisch gehäutete Tiere		Tiere vom 10. - 20. 10.	
Mitteldarmdrüse	2,4	2,9	2,0	2,0
Schwanzmuskel	1,2	1,2	1,2	1,8
Carapax	2,3	2,5	1,3	0,8
Geschlechtsorgan	3,0	2,6	1,8	2,1
Kiemem	2,1	1,7	1,8	1,7
Herz	1,7	2,6	2,0	1,1
Enddarm	3,7	2,6	1,8	2,2
Magen	1,1	2,4	1,6	1,0
Antennendrüse	4,8	2,5	1,9	1,8
Nervensystem	3,3	2,4	1,0	1,2
Epidermis	3,9	3,9	2,7	5,2
Hämolymphe	0,31	0,30	0,34	0,47

Gehalt der einzelnen Organe an proteingebundenem alkohol-löslichen Kohlenhydrat in mg Glucoseäquivalenten/g Frsgew. Tab. 8

Die geringen quantitativen Veränderungen lassen die Deutung als Strukturkohlenhydrat oder als Reserve zur Regulierung der Zuckerkonzentration (Fraktion I) zu (ROCHE u. DUMAZERT, 1940). In jedem Fall muß schon wegen der quantitativen Bedeutung auf diese Fraktion hingewiesen werden.

In der Literatur finden sich nur Angaben über die Glykoproteide des Blutes: ROCHE u. DUMAZERT (1940) fanden bei Cancer pagurus einen weitaus höheren Gehalt der gebundenen Kohlenhydrate als der freie Blutzucker ausmacht. Dagegen können MEENAKSHI u. SCHEER (1961) für Cancer magister nur 20 - 40 % des Gesamtkohlenhydrats als Glykoprotein nachweisen. Faßt man bei Orconectes die Werte für die

männlichen und weiblichen "Herbsttiere" zusammen, so erhält man im Vergleich:

	<u>Orconectes</u>	<u>Cancer pagurus</u> ROCHE u. DUMAZERT (1940)
freier Blutzucker = Fraktion I + II	ca. 10 mg %	22 mg %
Glykoproteide = Fraktion III + IV	ca. 40 mg %	110 mg %

Die Betrachtung der Funktionen der verschiedenen Kohlenhydrate bei den Crustaceen deutet auf ganz dieselbe Mannigfaltigkeit, wie sie der großen Zahl der einzelnen Zucker entspricht. Es ist zu prüfen, inwieweit sich die angeführten Deutungen durch Betrachtung der Beziehungen und Verhältnisse der verschiedenen Kohlenhydrate untereinander bestätigen. Weiterhin sollen die speziellen Funktionen der einzelnen Kohlenhydrate mit den Aufgaben der Organe, in denen sie eine wesentliche Rolle spielen, verglichen werden (S. 55). Schließlich kann auch aus dem Auftreten einzelner Zucker im Jahrescyclus auf deren Funktion rückgeschlossen werden (S. 69f).

1.3 Wechselseitige Beziehungen zwischen den Kohlenhydraten.

Eine gemeinsame Regulierung der Konzentration mehrerer Kohlenhydrate müßte sich in konstanten Proportionen ausdrücken. Nach der Deutung von MEENAKSHI u. SCHEER (1961) wäre ein solches System z. B. für die Maltosesaccharide zu erwarten, konnte aber nicht bestätigt werden.

Die Anlage der Versuche in der vorliegenden Arbeit bedingt durch die geringe Zahl der Mehrfachmessungen, daß Hinweise auf eine solche Regulierung nur erwartet werden können, wenn diese bei männlichen und weiblichen Tieren in verschiedenen Organen zu verschiedenen Zeiten konstant bleibt.

Die Prüfung eines von MEENAKSHI und SCHEER (1961) angegebenen Zusammenhanges der Maltosesaccharide mit der Glykogensynthese soll versucht werden. Die hierfür erforderliche Unterscheidung von

Struktur- und Speicherpolysaccharid ist auch eine wesentliche Grundlage für das funktionelle Verständnis der Organe. Nach den vorliegenden Werten ergibt sich eine Näherung nur unter Zuhilfenahme zweier Annahmen:

- a) als alkoholunlösliche Speichersubstanz fungiert ein Polyglucosid,
- b) wenn Fucose und Galaktose in einem Polysaccharidhydrolysat vorkommen, wird (nach HU 1958, MEENAKSHI u. SCHEER, 1959) auf ein saures Mucopolysaccharid geschlossen, das auch eine etwa äquivalente Menge Glucose enthält.

Der als "Glykogen" bezeichnete Teil der Polysaccharidfraktionen ergibt sich damit aus ihrem Glucosegehalt, vermindert um den Glucosebestand des Mucopolysaccharids.

Aus Tab. 9 ist ersichtlich, daß Organe mit dem höchsten "Glykogen"gehalt auch eine entsprechende Konzentration der Maltosesaccharide aufweisen.

	Maltose- saccharid	"Glykogen"	Gesamt - polysaccharid
Mitteldarmdrüse	0	0,51	2,18
Schwanzmuskel	0,39	0,32	0,76
Kiemen	0,84	0,40	1,30
Antennendrüse	1,0	1,1	2,6
Carapax	1,34	0,55	1,63
Magen/Enddarm	3,0	3,3	4,3
Epidermis	5,0	4,8	10,3
Herz	5,1	13,4	14,0

Tab. 9: Vergleich: Maltosesaccharide - "Glykogen" - Polysaccharid
Durchschnitt von männlichen und weiblichen Tieren im Herbst
und nach der Häutung;
Angaben in mg/g Frischgewicht

Eine weitere, offenbar sehr enge Beziehung wurde zwischen dem Hexuronsäure- und dem Neutralzuckergehalt der Fraktion I der Mitteldarmdrüse gefunden. In 5 Messungen bei männlichen und weiblichen

Tieren zu 3 verschiedenen Zeiten ergab sich ein nahezu unverändertes Verhältnis von 1:5.

2. Kohlenhydrathaushalt der Organe

Die Untersuchung der verschiedenen Organe im Hinblick auf eine Arbeitsteilung im Organismus erwies sich als unentbehrlich für das Verständnis des gesamten Kohlenhydrathaushaltes der Crustaceen. Keinesfalls ist es möglich, die Befunde an einem Organ auf das gesamte Tier zu übertragen.

Wie schon in dem vorhergehenden Abschnitt angedeutet wurde, zeigen die einzelnen Organe ein ganz charakteristisches Kohlenhydratspektrum. Es konnte für keine der untersuchten Substanzen eine gleichmäßige Verteilung über alle Gewebe gefunden werden; dies gilt gerade auch für die niedermolekularen Neutralzucker. In den meisten Fällen ist ein Zusammenhang mit der Funktion der Organe offensichtlich. Beide Themen sollen im folgenden erörtert werden. Die Diskussion der Wechselbeziehungen zwischen den Organen kann in Verbindung mit den Vorgängen im Jahrescyclus im letzten Kapitel erfolgen.

2.1 Überblick über Kohlenhydratspektrum und Funktion der Organe

Um zunächst einen Überblick zu erhalten, sind die Befunde in den Tab. 10 und 11 zusammengestellt. Die Unterschiede sind mehr quantitativer als qualitativer Art. Dennoch ist das Fehlen der Maltosesaccharide in der Mitteldarmdrüse und z. T. auch im Schwanzmuskel auffällig. Im Frühjahr tritt weiterhin Fruktose im Schwanzmuskel und vor allem in der Hämolymphe auf. In beiden Fällen wurde keine Galaktose gefunden. Die Verteilung der Polysaccharidbausteine zeigt entsprechend deutliche Unterschiede zwischen den Organen. Besonders stark variiert das Auftreten der Galaktose und Fucose. Auch in bezug auf den Zuckerderivatgehalt der Polysaccharide zeigen sich charakteristische Abweichungen in den einzelnen Organen.

Eine genauere Beschreibung des Kohlenhydratgehaltes unter Berücksichtigung der beobachteten Veränderungen im Laufe des Jahres soll in den Organcharakteristiken erfolgen. Daneben wird es darauf

	Gl	Ga	Tr	Ml	Ml ₃	Ml ₄	Zph	Az	Hu
Mdd.	++	+	++				+	+	+
Schwmm.	++	+	++	+					
Hämöl.	++	+	++	+	+	+		+	+
Carap.	++	+	++	+	++	++			
Kiemen	++	+	++	+	++	++	+		
Herz	++	+	++	+	++	++			
Magen									
Darm	++	+	++	++	++	+			
Antdr.	++	+	+	+	++	++			
Epid.	++	+	++	++	++	++	+		

Tab. 10 Die Verteilung der Mono- und Oligosaccharide über die Organe ("Herbsttiere").

	Gl	Ga	Fu	Az	Hu
Mitteldarmdr.	++	++	++	+	+
Schwanzmuskel	++	++	++		
Hämolymphe	++	+	++	+	+
Carapax	++	++	++		
Kiemen	++	++		+	
Herz	++				
Magen	++	++			
Darm					
Antennendrüse	++	+	++		
Epidermis	++	++	++		

Tab. 11 Zusammensetzung der Polysaccharide in den Organen ("Herbsttiere").

Zeichenerklärung: Neutralzucker sind durch ++ gekennzeichnet, wenn sie über 10 % der jeweiligen Fraktion ausmachen, durch +, wenn sie weniger als 10 % entsprechen, aber deutlich nachweisbar sind; die Zuckerderivate erhalten nur dann ein +, wenn sie in dem betreffenden Organ verhältnismäßig stark vertreten sind.

Gl - Glucose Ga - Galaktose
 Tr - Trehalose Ml - Maltose
 Ml₃ - Maltotriose Ml₄ - Maltotetraose
 Zph - Zuckerphosphate Az - Aminosucker
 Hu - Hexuronsäuren.

ankommen, aus den vorliegenden Daten auf die verschiedenen Funktionen der Organe im Kohlenhydratstoffwechsel und -haushalt des Flußkrebses rückzuschließen.

Eine funktionelle Einteilung der Organe kann entsprechend der Anlage der Untersuchungen von zwei Gesichtspunkten aus erfolgen:

a) Nach den Veränderungen des Kohlenhydratgehaltes im Jahrescyclus:

- Allgemeine Speicherorgane - Organe, die zu Zeiten reichen Nahrungsangebotes Kohlenhydrate speichern, um sie bei Bedarf für die verschiedenen Aufgaben des Stoffwechsels zur Verfügung zu stellen: Magen, Enddarm, Mitteldarmdrüse, Schwanzmuskel.
- Speicherorgane mit besonderen Aufgaben - die angelegten Vorräte dienen vorzugsweise dem speziellen Bedarf des jeweiligen Organs: Herz, Epidermis, Antennendrüse, Ovar.
- Stoffwechselorgane mit geringer Speicherung: Kiemen, Hoden.
- Organartige Systeme - sind gegenüber den eigentlichen Organen durch deutlich abgehobene Bedingungen des Stoffumsatzes charakterisiert: Carapax, Hämolymphe.

b) Nach dem Kohlenhydratspektrum der Organe:

- Organe mit überwiegendem Maltosesaccharid- und Glykogenstoffwechsel: Herz, Epidermis, Carapax, Magen-Enddarm.
- Organe, die durch einen hohen Anteil an Zuckerderivaten gekennzeichnet sind: Mitteldarmdrüse, Kiemen, Hämolymphe.
- Organe mit besonderer Ausrichtung: Antennendrüse, Muskel.

Schiebt man die beiden Schemata gleich Rastern übereinander, so erhält man trotz der zunächst groben Zusammenfassungen nur noch eine Überschneidung: Herz - Epidermis. Die Verschiedenartigkeit aller Organe, die man theoretisch fordern muß, scheint bereits für den Kohlenhydratstoffwechsel gegeben zu sein.

2.2 Charakterisierung der einzelnen Organe

Allgemeine Speicherorgane

M a g e n und E n d d a r m wurden nur in der summarischen Untersuchung der Kohlenhydratfraktionen I - III im Jahrescyclus

getrennt behandelt. Es ergaben sich viele Ähnlichkeiten (vergl. S. 74). Beide speichern wegen ihres geringen Gewichtes nur einen kleinen Teil der Kohlenhydrate des Flußkrebses. Die Speicherung erfolgt in allen Fraktionen, beide Organe fungieren als "primäre Speicher" (s. S. 75), aber offenbar nicht für den eigenen Bedarf. Der einzige, einigermaßen deutliche Unterschied besteht in ihrer Speicherkapazität⁺). Der Magen zeigt hier die höchsten Werte überhaupt, während der Enddarm zwar noch klar als Speicherorgan charakterisiert ist, aber doch nur geringere Veränderungen im Kohlenhydratgehalt zuläßt. Dementsprechend liegt der Gehalt an Glucose und deren Polymeren hoch, wobei die Trehalose im Herbst ca. 20 % der Fraktion I ausmacht. Der im Polysaccharidhydrolysat gleichmäßig auftretende Anteil an Galaktose könnte eine Vorstufe des im Lumen anzutreffenden Schleimes sein.

Auf eine Ähnlichkeit von Magen- und Enddarmgewebe weist bereits KELLER (1964) bei seinen Enzymverteilungsmustern hin. Auch die höhere Stoffwechselaktivität des Enddarmes würde mit einer geringeren Variabilität des Kohlenhydratgehaltes in Einklang zu bringen sein. Das Speicherverhalten dieser beiden Organe ließe sich am einfachsten erklären, wenn sie an der Kohlenhydratresorption wesentlich beteiligt wären. Dafür lassen sich allerdings in der Literatur keine Hinweise finden. Der mittlere Gehalt an relativ aktiven Stoffwechselprodukten (Mono- gegenüber Di- und Oligosacchariden sowie Zuckerphosphate) entspricht durchaus der von KELLER (1964) getroffenen Einordnung.

Zusammenfassend kann noch einmal betont werden, daß Magen und Enddarm dem Begriff des "allgemeinen Speicherorgans" in Übereinstimmung der quantitativen und qualitativen Verhältnisse am nächsten kommen.

In der M i t t e l d a r m d r ü s e , die allgemein als das

⁺) Organe mit hoher Speicherkapazität enthalten im Winter mehr als das Zehnfache ihres im Frühjahr gemessenen Minimalgehaltes am Kohlenhydrat (s. S. 73)

Speicherorgan der Crustaceen beschrieben wird, konnten trotz ihrer Größe durchschnittlich nur etwa 20 % (12 - 55) des in den Organen enthaltenen Kohlenhydrats gefunden werden (Herz: 7,5 %, Magenwand: 5 % bei je ca. 10 - 15 % des Mitteldarmdrüsen Gewichts), das über alle drei Fraktionen verteilt war. Die Mitteldarmdrüse enthält zwar von allen Organen die zweithöchste absolute Menge an Zucker, verändert ihren Kohlenhydratgehalt aber nicht sehr stark (s. S.74). Auch ihr Verhalten während der Häutung und Eibildung weist auf eine größere Bedeutung von Stoffumwandlungsprozessen gegenüber der Speicherung. Die Mitteldarmdrüse wird als "sekundärer Speicher" beschrieben.

Nimmt man die Befunde aus der Kohlenhydratanalyse dazu, so rundet sich das Bild noch weiter ab: Die Mitteldarmdrüse enthält insbesondere während der Häutung den höchsten Anteil an Zuckerphosphaten und Hexuronsäuren sowie eine vergleichsweise hohe Aminosuckerkonzentration. Glucose und Galaktose machen den Hauptanteil der Neutralzucker aus; daneben scheint ein wechselnder, aber recht hoher Anteil an niedermolekularen Glykopeptiden vorzukommen. Die für die speziellen Speicherorgane charakteristischen Maltosesaccharide fehlen offenbar völlig; ebenso scheint der Glykogenanteil des Polysaccharids gering. Dafür überwiegen die an Galaktose, Fucose und Zuckerderivaten reichen Polymeren, auf die neben der Fraktion I ein großer Teil der Speicherung entfällt, über deren Funktion aber fast nichts bekannt ist.

Die Mitteldarmdrüse wird in ihrer Speicherfunktion bei Orconectes limosus offensichtlich durch den Schwanzmuskel - das zweite große Organ - entlastet. Bei den meist untersuchten Brachyuren, bei denen die Mitteldarmdrüse einen weitaus größeren Anteil am Körpergewicht einnimmt (10 - 20 % gegenüber 3 - 5 %), liegen die Verhältnisse naturgemäß anders. Die Mitteldarmdrüse der Flußkrebse ist durch die angeführten Daten als das wichtigste und vielseitigste Stoffwechselorgan im Kohlenhydrathaushalt charakterisiert. Im einzelnen ergeben sich die folgenden Gesichtspunkte:

- Der hohe Gehalt an Zuckerphosphat deutet offensichtlich einen insgesamt intensiven Stoffwechsel der Kohlenhydrate an. Eine Bestätigung dieser Annahme kann in der allgemeinen Erhöhung des Anteils der Zuckerphosphate während der Häutung gesehen werden.

- Der gut geregelte, hohe Uronsäuregehalt kann mit der Synthese hexuronsäurehaltiger Polysaccharide in Verbindung gebracht werden. Daneben scheint eine Beteiligung an Entgiftungsprozessen möglich, wenn sie auch bei Crustaceen bisher noch nicht nachgewiesen wurde.
- Die Aminosucker, die in nicht sehr hoher und im ganzen auch zur Häutung wenig veränderter Menge zum großen Teil in Form von N-Acetylhexosamin auftreten, ergeben in der Mitteldarmdrüse wiederum die höchsten Werte.
- Der Neutralzuckerbestand der Mitteldarmdrüse gliedert sich gut in das Gesamtbild ein. Etwas problematisch ist das Fehlen der Maltosaccharide, was den Befunden von MEENAKSHI u. WANG (1961) und MEENAKSHI u. SCHEER (1961) an Cancer widerspricht. Der Gehalt an Glykopeptiden, die vielleicht zum Teil mit den Glykoproteiden der oben genannten Autoren identisch sind, weist auf weitere, zum großen Teil noch unbekannte Prozesse im Kohlenhydratstoffwechsel hin.

Diese an sich geschlossen wirkenden Vorstellungen eines höchst aktiven Stoffwechselorganes stehen allerdings in einem gewissen Widerspruch zu den Befunden von KERMACK, LEES u. WOOD (1954) und KELLER (1964), die durch Messung von Enzymaktivitäten und O_2 -Verbrauch von Homogenaten zu dem Schluß kommen, das "die Mitteldarmdrüse hinsichtlich des energieliefernden Kohlenhydratabbaus zu den am wenigsten stoffwechselaktiven Organen des Flußkrebse gehöre " (KELLER, 1964). Inzwischen kann als sicher angenommen werden, daß verschiedene 'in vitro' gemessene Enzymaktivitäten zu niedrig liegen (URICH, unveröff.). Andererseits ist es nicht möglich, aus der Zuckerphosphatkonzentration gerade auf einen relativ hohen Energiestoffwechsel zu schließen. Dagegen können Umwandlungsprozesse im Dienste anderer Organe von großer Bedeutung sein. Eine Deutung in diesem Sinne würde allen angeführten Ergebnissen entsprechen.

Nachdem mit der Mitteldarmdrüse und dem Magen-Darm-Kanal zwei so gegensätzliche Typen von Speicherorganen beschrieben worden sind, soll dem hier ein drittes, ebenso eigenständiges Organ hinzugefügt werden. Der *Schwanzmuskel* der Flußkrebse nimmt gegenüber den übrigen Skelettmuskeln eine Sonderstellung ein, die auch für das Verständnis seines Kohlenhydrathaushaltes von Bedeutung ist:

Als gut durchbluteter, sehr kompakter Muskel verhilft er den Flußkrebsen zu einem außerordentlich energischen, raschen Rückwärtschwimmen. Von großem Wert für die Tiere dürfte es sein, sich von einem Feind mittels der kräftigen Schwanzschläge freimachen zu können. Ganz im Gegensatz zur Vehemenz der Bewegung steht offenbar die Häufigkeit und die Dauer, mit der sie angewandt wird.

Der Schwanzmuskel enthält im wesentlichen in der Fraktion I ca. 40 % (17 - 60 %) des gesamten in den Organen gespeicherten Kohlenhydrats und damit doppelt soviel wie die Mitteldarmdrüse. Er liegt an dritter Stelle in der Speicherkapazität (s. S.73); die Anlage der Kohlenhydratvorräte erfolgt nicht allein entsprechend dem allgemeinen Angebot (s. S.79). Nach dem Verlauf der Speicherung zu urteilen, wird ein Teil der Kohlenhydrate für eigene Zwecke gebraucht (in und kurz nach der Häutung), der größte Teil scheint aber allgemeinen Aufgaben zu dienen.

Der Schwanzmuskel ähnelt insofern der Mitteldarmdrüse, als er wie diese im allgemeinen sehr wenig Glykogen enthält und kaum Maltosesaccharide. Die Fraktion I setzt sich fast ausschließlich aus Glucose und Trehalose in einem charakteristisch wechselnden Verhältnis zusammen. Bei einem Anteil von etwa 95 % der Fraktion I und 70 % der gesamten Kohlenhydrate des Schwanzmuskels im Frühjahr stellt sich die Frage nach der Bedeutung der Trehalose. Zunächst erscheint die Funktion als Speichersubstanz offensichtlich, wenn man die Verteilung über die einzelnen untersuchten Stadien betrachtet. Doch ergibt sich damit eine Konkurrenz mit der Speicherung von Glykogen und Maltosesacchariden, die aus irgendwelchen Gründen außerhalb der Häutung insbesondere im Winter zu Gunsten der Trehalose entschieden wird.

Der Schwanzmuskel ist offenbar wegen der oben diskutierten geringen Dauer seiner Tätigkeit und der guten Durchblutung bei einer außerordentlich geringen Kohlenhydratkonzentration (im April 0,5 mg Gesamtkohlenhydrat/g Frgew.) weitgehend funktionsfähig. Besonders der Glykogengehalt wird niedrig gehalten, er fällt im April noch stärker ab als die Fraktion I (0,1 gegen 0,4 mg/g Frgew.). Diese Beobachtungen lassen sich recht gut mit den Ergebnissen von KELLER

(1964) in Einklang bringen: Die Glucosekonzentration (als Teil der gemessenen Fraktion I: Im April 0,4 mg/g Frgew.) ist für die Funktion des Schwanzmuskels unwesentlich, das notwendige Hexosephosphat wird durch Glykogenabbau gewonnen. Die Glykogen"konzentration" liegt niedrig, die Phosphorylase- und die Phosphorglucoseaktivität hoch (KELLER, 1964; JANTZEN, unveröff.). Nimmt man ein nur in begrenztem Maße regelbares Enzymsystem im Schwanzmuskel an, so müßte eine Erhöhung der Glykogenkonzentration über ein bestimmtes Maß hinaus eine Störung der Stoffwechselvorgänge zur Folge haben. Da nach Angabe von MEENAKSHI u. SCHEER (1961) bei den Crustaceen Glucose und Maltosesaccharide fest mit der Glykogensynthese verbunden sein sollen, lassen sich Glucoseeinheiten nur in Form von Trehalose speichern, wenn Verschiebungen in dem angedeuteten System vermieden werden sollen.

In jedem Falle ist die Speicherung durch Verwendung von Trehalose von dem allgemeinen Kohlenhydratstoffwechsel, insbesondere der Glykogensynthese, abgetrennt. Im Einklang damit steht, daß im zeitigen Frühjahr keine oder nur äußerst schwache Trehalaseaktivität im Schwanzmuskel gefunden werden konnte (JANTZEN, unveröff.). Über die Verwendung der Trehalose konnten die vorliegenden Versuche keine Auskunft geben, da die Hauptmenge im Frühjahr (vergl. S.79) abgebaut wird; ein Verbrauch im Rahmen des Energiehaushaltes ist am wahrscheinlichsten. Die verschiedentlich diskutierte Bedeutung für die Frostresistenz ist auf Grund der Lebensweise der Flußkrebse unwahrscheinlich, aber nicht völlig auszuschließen. Auffällig ist schließlich, daß das Polysaccharid des Schwanzmuskels nicht erwartungsgemäß ein reines Polyglucosid darstellt, sondern relativ hohe Anteile an Fucose und Galaktose enthält.

Speicherorgane mit besonderen Aufgaben

Das Herz weist von allen Organen die höchste Konzentration an Polysaccharid auf und scheint zumindest auf relativ hohe Werte auch angewiesen zu sein, da nie ein annähernd vollständiger Abbau erfolgt. Entsprechend ist seine Speicherfähigkeit nur gering, obwohl es nach dem Schwanzmuskel und der Mitteldarmdrüse von allen untersuchten Organen am meisten Kohlenhydrate enthält. Das Herz stellt erwartungsgemäß einen "tertiären" Speicher dar (s. S.75).

Es ist das Organ mit dem ausgeprägtesten Glykogenstoffwechsel, das mit Ausnahme einer relativ hohen Uronidkonzentration außer Glykogen fast nur Glucose und Maltosesaccharide enthält. Eine geringere Aktivität der glykogenabbauenden und -verwertenden Enzyme (KELLER, 1964) kann trotz der großen Menge des Substrats (da im übrigen in den Muskelfasern gar nicht so konzentriert ist, vergl. S.64) durchaus auf einen niedrigeren Umsatz als im Schwanzmuskel hinweisen. Die Flußkrebse erhöhen charakteristischerweise in der Zeit zwischen den Messungen "Vorhäutung" und "frisch gehäutete Tiere" den Gehalt der Fraktion I und damit wahrscheinlich den Glucosegehalt des Herzens entgegen der Tendenz in allen übrigen Organen ganz außerordentlich. Auf einen Zusammenhang mit den erhöhten Anforderungen durch die Vergrößerung des Blutvolumens wird S.83 hingewiesen.

Die Fraktion I, die im Herzen sonst wenig verändert wird, scheint für die Energiegewinnung wirksamer zu sein, als das in hoher Konzentration vorhandene Polysaccharid. Überhaupt ist es fraglich, ob das Polysaccharid nur als Reserve für die energieliefernden Prozesse aufzufassen ist. Die in der lockeren Muskelschicht des Herzens relativ gleichmäßige, ungewöhnlich hohe Konzentration könnte die Deutung als Strukturkohlenhydrat nahelegen, wenn das auch für ein Polyglukosid hier ungewöhnlich wäre.

Histologische Untersuchung der Polysaccharidspeicherung des Herzens:

Besonders ins Auge fällt der große Unterschied im Glykogengehalt des Herzens und des Schwanzmuskels. Die Überlegung, daß ein Glykogengehalt von 30 % (bei Hälterungstieren 50 %) der Trockensubstanz für einen Muskel eine starke Behinderung darstellen müßte, lag nahe. Von dem isolierten Herzen, wie es sich durch die Präparation ergibt, und von dem Herzen in situ wurden in üblicher Weise mikroskopische Präparate angefertigt (Fixierung nach CARNOY). Die Anfärbung des Glykogens geschah mit der Perjodsäure-Schiff-Reaktion (PEARSE, 1961). Die herauspräparierten Herzen von Tieren, die im März entnommen wurden (Fig.12) und reichlich Glykogen enthielten, zeigen neben einem an sich schon hohen Gehalt des Polysaccharids in dem lockeren Muskelgewebe eine außerordentlich starke Konzentration in der Außenwand (äußere Adventiva, Fig. 7). Dieses Bindegewebe umgibt das

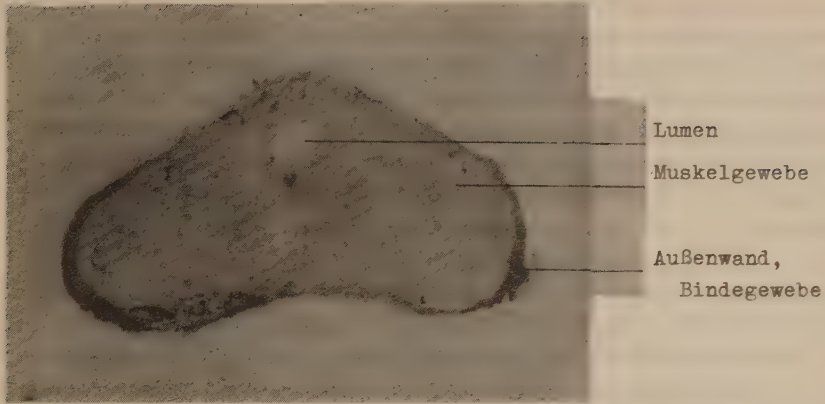
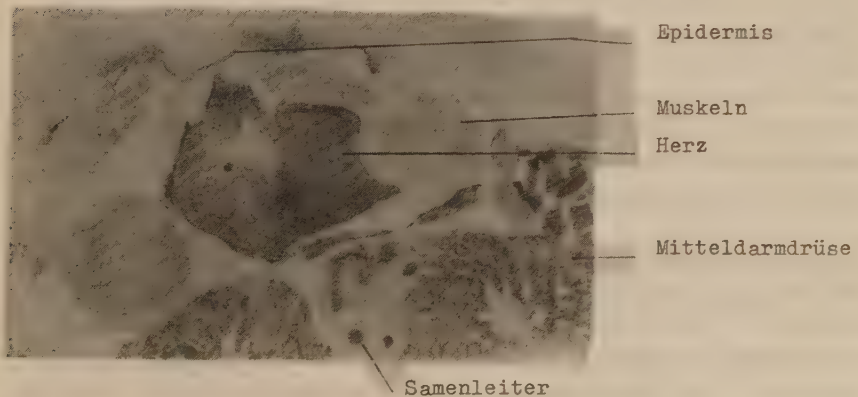


Fig. 7 Querschnitt durch das herauspräparierte Herz,
Färbung: Perjodsäure - Schiff auf Glykogen.

ganze Herz in verschieden dicker Schicht, ist aber durch vielfache Verstärkung besonders in der vorderen und hinteren Region durchaus von quantitativer Bedeutung. Im April, wenn der Gesamtglykogengehalt des Herzens abgesunken ist, zeigt das Muskelgewebe noch nahezu das gleiche Bild, die Abnahme geht fast ausschließlich zu Lasten der Bindegewebsschicht (Fig. 7,8). Allerdings sollte nicht über-

Fig. 8 Herz "in situ", Färbung wie Fig. 7



sehen werden, daß der Minimalwert von ca. 6 mg Polysaccharid/g Frischgewicht auch noch sehr hoch liegt (Muskel entsprechend 0,4 mg/g Frgew.). Ob ein Zusammenhang mit den Besonderheiten des Stoffwechsels oder der äußerst lockeren Struktur des Herzmuskelgewebes besteht, muß zunächst offenbleiben. Jedenfalls scheint die Bindegewebslage als Speicher und Regulator zu fungieren, während die Glykogenkonzentration im Muskel selbst annähernd konstant gehalten wird.

Entgegen der Annahme, die *E p i d e r m i s* sei nur für die Bildung des neuen Integuments verantwortlich, hat sich gezeigt, daß eine intensive Kohlenhydratspeicherung im Winter (s. Fig. 12) offenbar für den allgemeinen Bedarf vorliegt. Die Speicherkapazität ist vermutlich für das ganze Tier erheblich, wenn auch wegen methodischer Schwierigkeiten nur ein kleiner Teil erfaßt werden konnte. Eine Abschätzung von SCHWABE, SCHEER u. SCHEER (1952) an Palinurus japonicus bestätigt das. Entsprechend der Spezialisierung des Gewebes ist die Speicherfähigkeit nach der des Magens die höchste.

Die Neutralzuckerzusammensetzung weist auf einen intensiven Glykogenstoffwechsel hin, wenn auch nur etwa 50 % des reichlich vorkommenden Polysaccharids reines Polyglucosid zu sein scheinen. Bereits hier deuten sich andere Stoffwechselvorgänge an. Unerwartet niedrig liegt der Gehalt an Aminosackern insbesondere auch des N-Acetylhexosamins bei frisch gehäuteten Tieren, was im folgenden noch zu diskutieren ist (s. S. 88). Dafür ist die Konzentration der Zuckerphosphate auch im Herbst von allen untersuchten Organen am höchsten, wenn auch ihr Anteil an den gesamtanthronpositiven Substanzen unter dem der Mitteldarmdrüse, Kiemen und des Carapax der frischgehäuteten Tiere liegt. Der hohe Gehalt dieser "aktiven" Zuckerderivate bestätigt, daß die Epidermis ihre Tätigkeit nicht nach beendeter Häutung einstellt. Sie läßt sich am besten als kombiniertes Stoffwechsel- und Speicherorgan charakterisieren.

Von den Angaben in der Literatur, die zum Teil besser im Rahmen der Häutung mitbehandelt werden, sei nur erwähnt, daß SCHEER u. MEENAKSHI (1961) in der Epidermis von Cancer nur das saure Mucopolysaccharid nachwiesen. Daneben fand ich bei Orconectes zumindest Aminosucker und Hexuronsäuren. Aus der Zusammensetzung der Fraktion I

und dem relativ hohen Anteil der Glucose am Polysaccharid kann zusätzlich auf Glykogen geschlossen werden. Ebenso ändert sich der Gehalt an Polysaccharid zwar im Rahmen der Häutung, aber im Gegensatz zu den Befunden von MEENAKSHI u. SCHEER (1961) deutet nichts auf ein völliges Schwinden des galaktose- und fucosehaltigen Mucopolysaccharids hin.

Bei der Antennendrüse steht die Speicherung weniger stark im Vordergrund als bei den vorhergehenden beiden Organen. Sie erfolgt in allen drei Fraktionen und scheint langsam dem allgemeinen Kohlenhydratangebot im Körper zu folgen (tertiärer Speicher). Wegen der geringen Menge ist neben der Abgabe an andere Organe (insbesondere während der Häutung) auch an den eigenen Bedarf zu denken. Als einzige Besonderheit fällt das auch S.80 erwähnte Ansteigen der Fraktion II während der Eibildung der weiblichen Tiere auf, dessen Bedeutung jedoch unklar ist.

Die Zusammensetzung der Kohlenhydrate scheint zunächst einem allgemeinen Durchschnitt zu entsprechen: Etwas Maltosesaccharide, eine wechselnde Menge Trehalose, noch relativ viel Glucose und wenig Zuckerderivate, besonders auch in den Polysacchariden, die dafür aber viel Fucose und Galaktose in wechselnden Mengenverhältnissen enthalten.

Dabei zeigt die Antennendrüse in den Veränderungen dieser Zusammensetzung eine einzigartige Umkehr aller sonst allgemeingültigen Regeln (vergl. S.84):

- Der Monosaccharidgehalt wird während der Häutung zugunsten der Di- und Oligosaccharide gesenkt.
- Die Trehalose ist bei den frisch gehäuteten Tieren in höherem Anteil und in höherer Absolutkonzentration vorhanden als im Herbst.
- Der Zuckerphosphatgehalt ist kurz nach der Häutung - allerdings nur geringfügig - gesenkt, zumindest aber nicht erhöht. Einzig der N-Acetylhexosamingehalt und -anteil liegt, wie es der allgemeinen Tendenz entspricht, bei den frisch gehäuteten Tieren höher.

Die Antennendrüse, die neben den Kiemen den größten Teil der

Exkretion übernimmt, scheint offenbar mit der Häutung in eine wenig aktive Phase einzutreten, während nahezu alle übrigen Organe durch eine deutliche Intensivierung des Kohlenhydratstoffwechsels gekennzeichnet sind. Betrachtet man die Funktion der Antennendrüse, so kann als wesentlichster Unterschied gegenüber den übrigen Organen die Abscheidung von Wasser aufgefaßt werden, ein gerade für Süßwassertiere auch energetisch außerordentlich wichtiger Prozeß. Direkt während der Häutung und kurz danach muß der Krebs auf seine später durch echtes Wachstum zu erreichende Größe "heranquellen". Es wäre verständlich, daß dem nicht noch durch Exkretion von Wasser entgegengewirkt wird.

Die Angaben von KELLER (1964) stimmen insofern gut überein, als man aus der Zusammensetzung der Kohlenhydrate auf einen wenig spezialisierten Stoffwechsel schließen kann. Der hohen Hexokinaseaktivität würde der Vorrang der freien Glucose in dem aktiven Stadium der Antennendrüse entsprechen. Als einen Hinweis auf besonders hohe Stoffwechselaktivität kann zunächst nur der recht gleichmäßige Gehalt an der offenbar wichtigen Fraktion I genommen werden.

Stoffwechselorgane mit geringer Speicherung

Die K i e m e n spiegeln in stark gedämpfter Form die Schwankungen im Kohlenhydratgehalt des ganzen Krebses wieder. Die relativ geringen Schwankungen deuten bereits eine Regulation zugunsten der Stoffwechselvorgänge an. Dabei erklären sich die im ganzen niedrigen Werte durch eine Erhöhung des Frischgewichts durch Hämolymphe und chitinöse Anteile, die wenig lösliches Kohlenhydrat enthalten. Die geringen Schwankungen im Gehalt an Neutralzuckern, deren gleichmäßige Zusammensetzung und der relativ konstante Glucoseanteil sind vermutlich im Zusammenhang mit der großen Zahl verschiedener Aufgaben der Kiemen zu deuten. Der kurz nach der Häutung und im Herbst nahezu unveränderte Zuckerphosphatgehalt weist bei seinem gleichzeitig hohen Anteil an dem Gesamtkohlenhydrat auf einen kontinuierlich intensiven Kohlenhydratstoffwechsel hin. Auch der Uronsäuregehalt wird während der Häutung nicht verändert.

Die Polysaccharide fallen durch den fast dem Glucoseanteil entsprechenden Galaktosegehalt auf, der in dieser Form in keinem ande-

ren Organ gefunden werden konnte. Nur bei den frisch gehäuteten weiblichen Tieren ließ sich zusätzlich Fucose nachweisen. Der Anteil der Zuckerderivate am Polysaccharid liegt kurz nach der Häutung deutlich niedriger als im Oktober. Während der Hexuronsäuregehalt der Fraktion I nicht verändert ist, nimmt der Anteil an N-Acetylhexosamin scharf zu (bis auf 10 % der Neutralzucker). Eine Deutung der entsprechenden Polysaccharide als Reservesubstanzen unter Berücksichtigung des hohen Hexosaminanteils wäre möglich. Es liegt nahe, an den eigenen Bedarf der Kiemen zu denken, da eine vergleichbare Erscheinung in keinem der anderen Organe beobachtet wurde. Die Kiemen nehmen insofern eine Sonderstellung ein, als sie während der Häutung in bezug auf die Atmung, Exkretion und Ionenaufnahme voll funktionsfähig bleiben und dabei in gewisser Hinsicht die Aufgaben der Epidermis mit übernehmen müssen. Der zusätzliche Aufbau der neuen Chitinmembranen nach der Häutung erfordert offensichtlich einen gesonderten Weg zur Bereitstellung der Reservesubstanzen.

Organartige Systeme

Eine Untersuchung des *Carapax* ist, mit der Präparation angefangen, problematisch. Das noch weiche, im Aufbau begriffene Integument ergab noch den besten Ansatzpunkt für die hier verwendete Methodik. Jedoch zeigten sich in vieler Hinsicht kaum Unterschiede zur Epidermis, so daß besonders der geringe Kohlenhydratgehalt, der im Oktober gefunden wurde - trotz Übereinstimmung mit den Angaben von DALL (1965b) - fragwürdig erscheint. Es ergeben sich aber bei der quantitativen Bestimmung der einzelnen Kohlenhydrate des Carapax höhere Werte für Zuckerphosphat, Uronsäuren und N-Acetylhexosamin, als sie in der Epidermis gemessen wurden. Allerdings konnte auch in dem noch weichen Carapax kein über das allgemeine Niveau hinausgehender Gehalt an Aminosackern gefunden werden.

Für die *Hämolymphe* gelten in mancher Hinsicht besondere Bedingungen: Als flüssiges Transportsystem stellt sie den größten einheitlichen Komplex im Körper der Crustaceen. Ihre Kohlenhydratkonzentration liegt um mindestens eine Zehnerpotenz unter der der bisher beschriebenen Organe. Der Neutralzuckergehalt der Hämolymphe ist, verglichen mit anderen Organen, im allgemeinen keinen allzu großen Schwankungen unterworfen. Die größten beobachteten

Veränderungen liegen in der Fraktion I und scheinen mit der Fortpflanzung in Zusammenhang zu stehen. Bedeutende individuelle Abweichungen, besonders der gehäuterten Tiere, weisen auf Faktoren hin, die in dieser Arbeit nicht weiter beachtet werden konnten.

Die Zusammensetzung des "Blutzuckers" zeigt in den frisch gehäuteten und den Herbsttieren die bereits bekannten Mono- und Oligosaccharide. Die Glucose ist ihrer allgemeinen Bedeutung entsprechend stets am stärksten vertreten, aber auch die Trehalose erreicht als Blutzucker einen beachtenswerten Anteil. Ihre Eignung für Reserve- und Transportzwecke geht bereits aus den ganz außerordentlich hohen Blut-Trehalosewerten der meisten Insekten hervor (häufig 500 bis 2000 mg %). Die Maltosesaccharide sind in der Hämolymphe nur in geringer Menge vorhanden und im Frühjahr zum Teil gar nicht mehr aufzufinden. Der relativ hohe Fruktosegehalt der Hämolymphe um diese Zeit kann nicht gedeutet werden. Die Zuckerphosphate entsprechen einem wenig veränderten Anteil der Neutralzucker. Hexuronsäuren und N-Acetylhexosamin sind besonders im Oktober in verhältnismäßig hoher Konzentration vorhanden. Ein nennenswerter Anstieg des Hexosamingehaltes zur Zeit der Häutung konnte nicht festgestellt werden.

Neben den Einzelwerten scheint das in jedem Falle hohe Konzentrationsgefälle für Kohlenhydrate zwischen den Geweben und der Hämolymphe beachtenswert.

Die Kohlenhydrate der Gonaden und des Nervensystems wurden nur bei der summarischen Bestimmung im Jahrescyclus erfaßt. Die Ergebnisse sind im folgenden Kapitel (s. S. 78) angeführt.

3 Einflüsse der verschiedenen physiologischen Faktoren im Jahrescyclus auf den Kohlenhydrathaushalt

Die descriptiv-biochemische Untersuchung der Kohlenhydrate wird durch die Berücksichtigung der Veränderungen im Jahrescyclus in vielfacher Weise ergänzt. Neben der Art und der Größe dieser Veränderungen müssen deren Ursachen und biologische Bedeutung beachtet werden. Im Hinblick auf den Zusammenhang mit einer entsprechenden

Regulation des Stoffwechsels ist es möglich, auf die Funktion der Organe und der einzelnen Kohlenhydrate rückzuschließen. Im Jahrescyclus ist ein sehr komplexes Zusammenwirken der unterschiedlichen inneren und äußeren Einflüsse enthalten, dessen Deutung einerseits durch Überlappungen, andererseits durch die gegenseitige Beeinflussung auch zeitlich auseinanderliegender Vorgänge erschwert wird. Eine einfache Analyse der auf die untersuchten Flußkrebse einwirkenden Faktoren ergibt vier Komplexe:

- Jahreszeit, Temperatur, Wassertiefe, Licht;
- Nahrungsaufnahme, Wachstum;
- Häutungen;
- Fortpflanzung.

Für keinen dieser Einzelfaktoren liegt eine umfassende Untersuchung der Kohlenhydrate von Crustaceen vor. Ebenso fehlt eine zusammenhängende Bearbeitung des gesamten Komplexes selbst für bevorzugte Themen wie den Blutzucker. Es soll daher zunächst versucht werden, einen Überblick über die Veränderungen im Kohlenhydratgehalt der Flußkrebse zu erhalten, um dann insbesondere das Zusammenwirken der einzelnen Organe zu untersuchen.

3.1 Die Kohlenhydratspeicherung

Die Ursachen für die starken Schwankungen im Kohlenhydratgehalt der Flußkrebse sind einerseits in der ungleichmäßigen Nahrungszufuhr zu suchen. Sowohl das Nahrungsangebot als auch die Nahrungsaufnahme der Tiere bleiben nicht das ganze Jahr über gleich. Andererseits steigt der Bedarf an Kohlenhydraten während der Häutungen, der Eibildung und offenbar auch im zeitigen Frühjahr außerordentlich an, so daß die Nahrungsaufnahme allein keinen vollständigen Ausgleich schaffen kann. In diesem Falle wird auf die Vorräte der einzelnen Organe zurückgegriffen. Einen Überblick über diese Veränderungen gibt Fig. 9. Die meisten Organe sind zu einer derartigen allgemeinen Speicherung von Kohlenhydrat fähig. Das Maximum der Kohlenhydratspeicherung liegt im November bis Januar, es folgt ein kleineres Maximum in der Vorhäutungsphase. Ein ausgeprägtes Minimum wird im März - April erreicht, ein zweites, weniger scharfes nach der Häutung.

Hier soll zunächst der Abfall der Kohlenhydratkonzentration im Frühjahr betrachtet werden; der Häutung ist ein gesonderter Abschnitt

(s. S. 82) vorbehalten. Nach der intensiven Speicherung von Kohlenhydrat im Herbst bleibt die Konzentration in den Organen im Dezember und Januar nahezu konstant. Erst im Februar mit dem ersten Anstieg der Temperatur beginnt der Abfall. Anfang März werden mit dem Auftreten der Fruktose in der Hämolymphe und dem Schwanzmuskel, dem außerordentlichen Anstieg der Trehalosekonzentration im Schwanzmuskel und dem Fehlen der Galaktose die stärksten Veränderungen in der Zusammensetzung der Neutralzucker überhaupt gefunden. Im April ist der absolut niedrigste Gehalt an Kohlenhydrat erreicht. Die Flußkrebse, die sich den Winter über ins tiefe Wasser (4 - 6 m) zurückgezogen oder in den Schlamm eingegraben hatten, haben sich wieder in der Uferregion eingefunden.

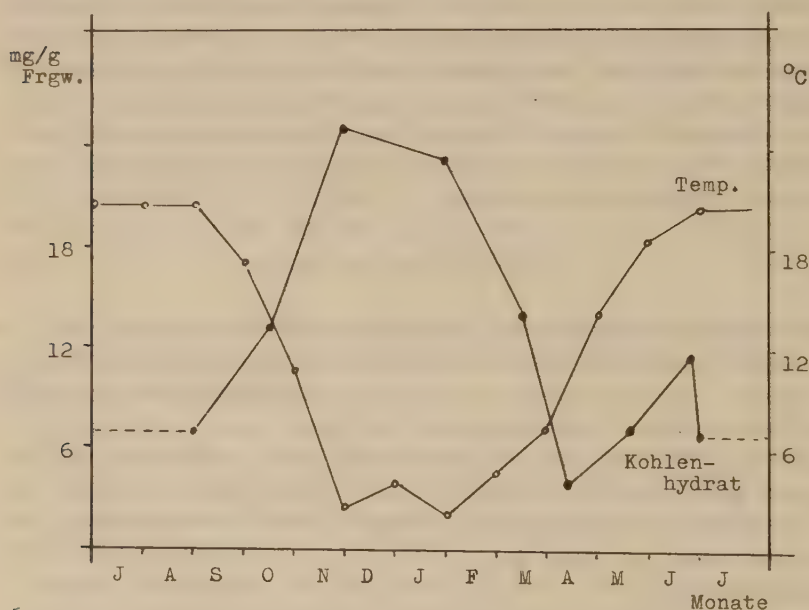


Fig. 9: Durchschnittliche Kohlenhydratkonzentration (mg Glucose-äquivalente) von männlichen und weiblichen Tieren in Mitteldarmdrüse, Magen und Enddarm. Die Temperaturkurve setzt sich aus Messungen in 1 m Wassertiefe in der Oberhavel zusammen (Meteorologisches Institut, Berlin-Dahlem).

Dieses im Frühjahr auftretende Minimum stellt die einschneidendste Erscheinung im Kohlenhydratstoffwechsel von Orconectes dar. Wie bei keinem anderen Vorgang werden alle Organe gleichmäßig erfaßt; der Abbau der Kohlenhydrate scheint sehr schnell zu erfolgen. Über die eigentlichen Ursachen dieser Erscheinungen können allenfalls Vermutungen angestellt werden, zumal sich in der Literatur für Crustaceen nichts Vergleichbares findet. Es wird im allgemeinen davon ausgegangen, daß der Kohlenhydratstoffwechsel der Krebse zwar auch dem Energiehaushalt dient, ganz wesentlich aber im Dienste der Häutung steht. Die quantitativen Verschiebungen während der Häutung machen bei Orconectes aber anscheinend nur einen Bruchteil des energischen Umsatzes im Frühjahr aus. Da die Tiere nicht einmal eine Winterstarre im eigentlichen Sinne durchmachen und auch die Nahrungsaufnahme nur reduzieren, nicht aber völlig einstellen, sollen auch Vergleiche mit ähnlichen Erscheinungen bei Wirbeltieren bis zu einer genaueren Untersuchung der Ursachen zurückgestellt werden.

Die einzelnen Organe zeigen in ihrem Kohlenhydratgehalt, in ihrer Speicherfähigkeit und in der Anlage der Kohlenhydratvorräte charakteristische Unterschiede, die auf die verschiedenen Funktionen hinweisen. Arbeitsteilung und gegenseitige Ergänzung im Gesamtorganismus lassen sich deutlich erkennen.

Der Kohlenhydratgehalt hängt bei den meist vergleichbaren Konzentrationen wesentlich von der Größe der Organe ab (s. Tab.12). Der Hauptanteil am Gesamtkohlenhydrat kommt von den untersuchten Organen dem Schwanzmuskel und der Mitteldarmdrüse zu, wobei über die Epidermis keine sichere Aussage gemacht werden kann. Gegenüber den Literaturangaben erstaunt der ganz wesentliche Anteil des Schwanzmuskels am Gesamtkohlenhydrat, der hier im allgemeinen sogar über dem der Mitteldarmdrüse liegt. Allerdings ist hervorzuheben, daß die meisten Untersuchungen an den kurzschwänzigen Krabben vorgenommen worden sind, denen dieses ganze Organ fehlt. Hinzu kommt, daß der hohe Kohlenhydratanteil des Muskels zu einem großen Teil der Fraktion I zukommt, die bisher wenig beachtet worden ist (vergl. SCHWABE, SCHEER u. SCHEER, 1952).

	Minimum	Mittel	Maximum
Mitteldarmdrüse	13,0	24,5	48,0
Schwanzmuskel	16,5	40,5	61,0
Hoden	0,5	1,5	2,5
Herz	4,5	7,5	9,5
Kiemen	5,0	7,0	9,5
Magen	1,0	4,0	6,5
Darm	1,5	2,5	4,0
Antennendrüse	2,0	4,0	6,5
Hämolymphe	1,0	1,2	2,5
Nervensystem	0,5	1,3	1,5
Epidermis	1,0	4,5	10,0

Tab. 12: Quantitative Verteilung der Neutralzucker auf die einzelnen Organe

Angabe in Prozent des Gesamtkohlenhydratgehaltes der untersuchten Organe. Berücksichtigt wurden die männlichen Tiere in der Zeit vom 15.6.65 - 11.4.66 (Tab.1)

Zur Beurteilung der **S p e i c h e r f ä h i g k e i t** kann zunächst die Menge der gespeicherten Kohlenhydrate je Organ herangezogen werden (Fig. 10). Es ergibt sich ein ähnliches Bild, wie es schon in Tab. 12 dargestellt ist; alle größeren Organe enthalten zu bestimmten Zeiten wesentlich mehr Kohlenhydrat, als es ihrem Minimalbedarf entspricht. Für die funktionelle Charakterisierung ist es wichtiger, das Wievielfache seines Minimalgehaltes ein Organ speichern kann, beziehungsweise inwieweit es die Kohlenhydratkonzentration im Zusammenhang mit anderen Aufgaben konstant hält (Fig. 11). Deutlich wird, daß die Mitteldarmdrüse als wesentliches Stoffwechselorgan seinen Kohlenhydratgehalt nicht beliebig verringert; das gleiche Verhalten zeigen Hämolymphe, Herz, Antennendrüse, Kiemen und Nervensystem. Trotz der geringen gespeicherten Absolutmenge weisen sich Magen, Darm und die von der Epidermis entnommene Probe hier deutlich als Speicherorgane aus, ebenso wie der Schwanzmuskel.

Weiterhin muß die **A n l a g e d e r V o r r ä t e** beachtet werden. Die Organe zeigen einen unterschiedlichen zeitlichen Verlauf des Auf- und Abbaus der Kohlenhydrate (Fig. 12). Nach der

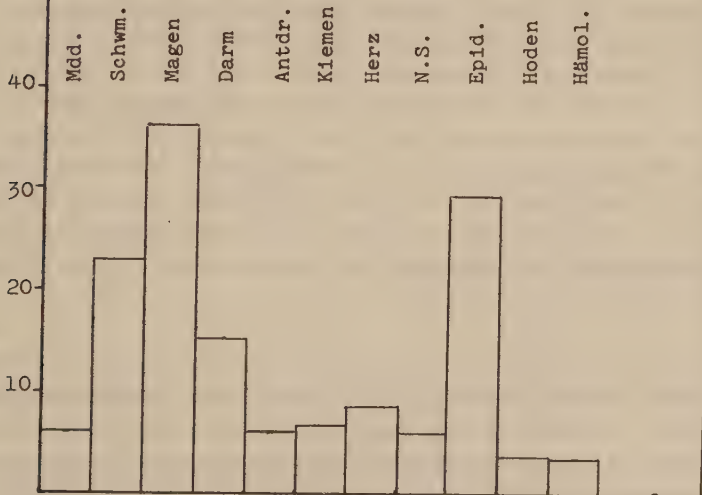
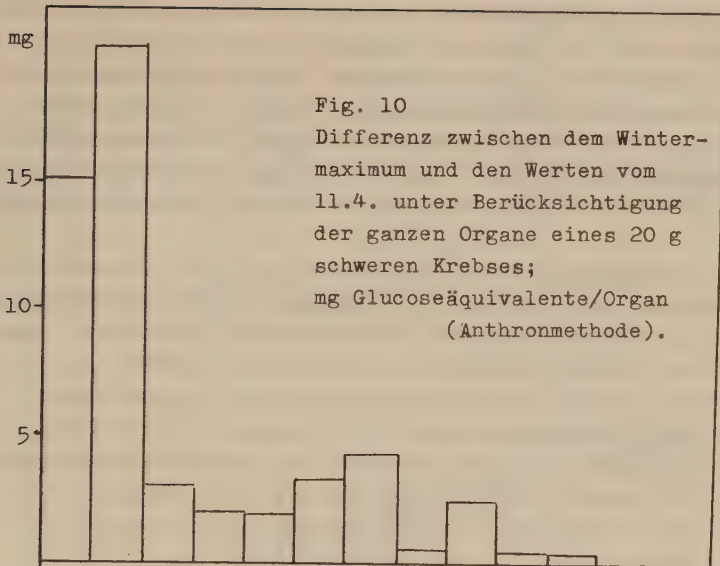
Speicherfähigkeit

Fig. 11 Das Wievielfache der Werte vom 11.4. vermag das einzelnen Organ zu speichern ?

Häutung beginnen Magen und Enddarm sofort mit der Ansammlung von Kohlenhydrat, die unvermindert bis Ende November weiterläuft. Mitte Oktober ist etwa die Hälfte der (gesamten, von August an gespeicherten) Maximalkonzentration erreicht. Der Kohlenhydratanstieg der Mitteldarmdrüse setzt wesentlich langsamer ein: im Oktober sind erst ca. 20 % des Novembermaximums erreicht. Die Antennendrüse zeigt im August bis Oktober eine nur sehr geringe Steigerung des Kohlenhydratgehaltes; das Maximum wird erst im Februar erreicht.

Diese Reihenfolge scheint in charakteristischem Zusammenhang mit der Resorption und Verteilung der Kohlenhydrate aus der Nahrung zu stehen. Entsprechend läßt sich eine Einteilung in primäre (Magen und Enddarm), sekundäre (Mitteldarmdrüse) und tertiäre (Antennendrüse, Kiemen und Herz) Speicherorgane treffen. Unter Berücksichtigung der Stoffwechselfunktion der Mitteldarmdrüse ist so eine zwanglose Interpretation der verschiedenen beobachteten Vorgänge möglich. Die übrigen Organe - Carapax, Epidermis, Muskel, Hämolymphe, Geschlechtsorgane - folgen Sonderentwicklungen.

Betrachtet man den Zeitverlauf der Speicherung getrennt für die einzelnen Fraktionen, so findet man charakteristische Unterschiede (Fig. 13). In fast allen Organen zeigen die Mono- und Oligosaccharide im September bis Mitte Oktober einen sehr raschen Anstieg, der sich bis Ende Januar deutlich nachlassend fortsetzt. Die Polysaccharide folgen dem nur zögernd. Während die Fraktion III in der Zeit von August bis Oktober eine nur sehr geringfügige Erhöhung erfährt, um dann um so steiler bis Ende November ihr Maximum anzustreben, schlagen die säurelöslichen Polysaccharide einen Mittelweg zwischen beiden Extremen ein. Auch hier liegt es nahe, an eine Umwandlung in der beschriebenen Reihenfolge: alkohollösliche Mono- und Oligosaccharide $\rightarrow$ säurelösliche Polysaccharide $\rightarrow$ alkalilösliche Polysaccharide zu denken.

Auf die Art der gespeicherten Kohlenhydrate kann nur unter Vorbehalt rückgeschlossen werden, da im Winter nicht genügend Tiermaterial für eine vollständige Analyse zur Verfügung stand. Sicher ist, daß sich die Speicherung nicht nur auf Glykogen beschränkt, sondern vielmehr auch die übrigen galaktose-, fucose-, hexosamin- und hexuronsäurehaltigen Polysaccharide sowie in hohem Maße die

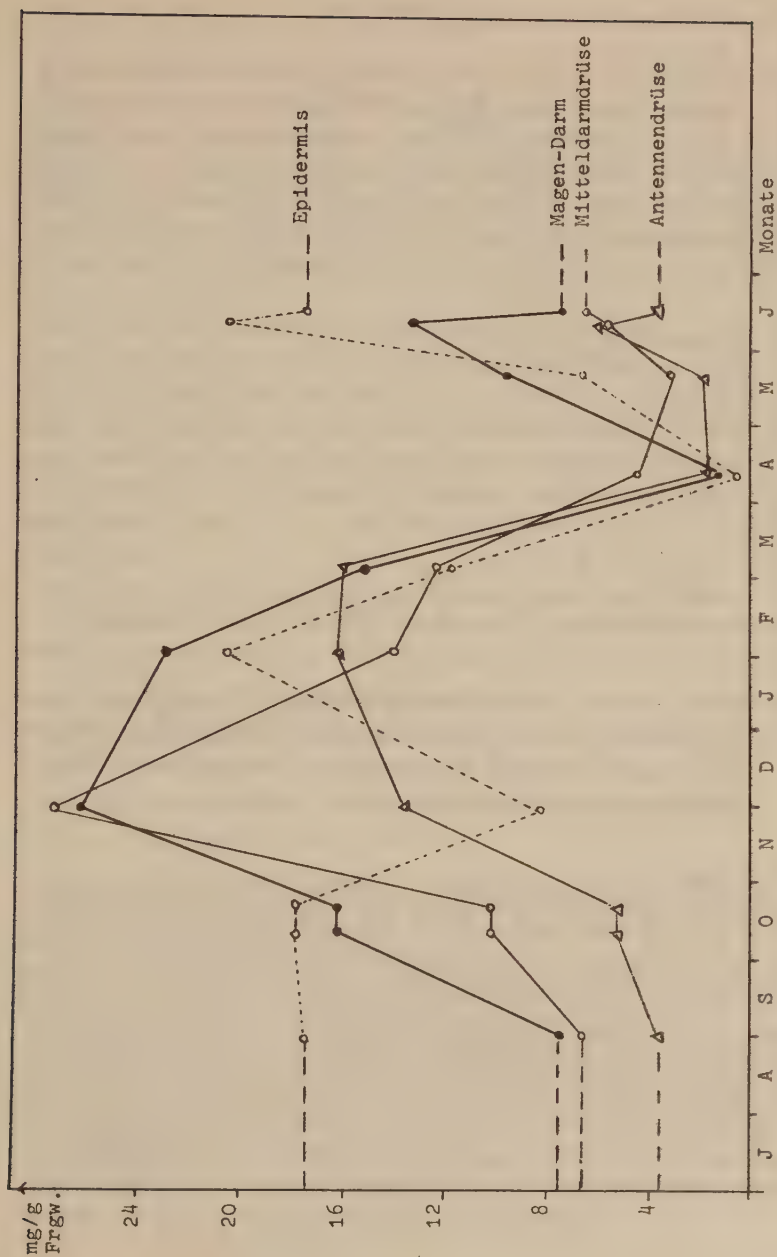


Fig. 12: Zeitlicher Verlauf der Speichervorgänge in verschiedenen Organen der männlichen Tiere. Dargestellt ist der Gesamtkohlenhydratgehalt (Anthrone methode).

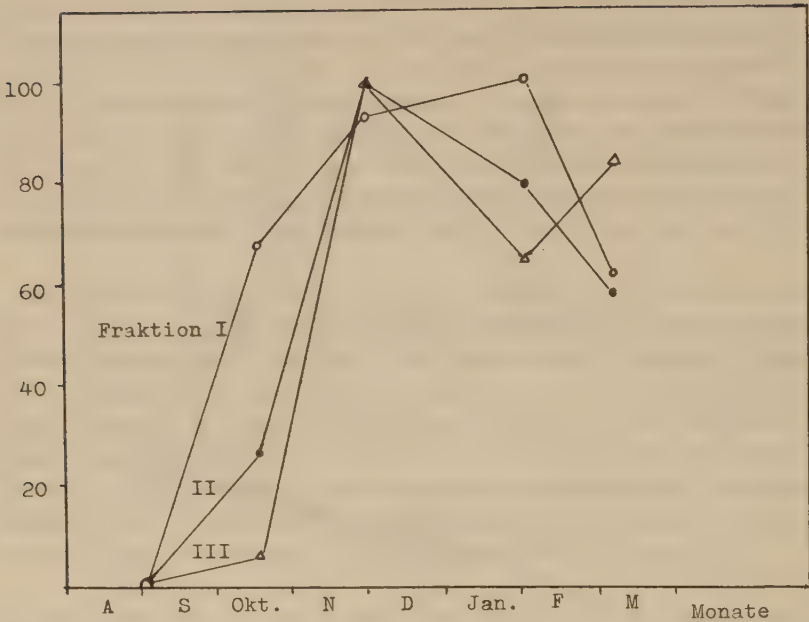


Fig. 13 Anstieg der 3 Kohlenhydratfraktionen im Herbst und Winter. Zusammengefaßt sind Mitteldarmdrüse, Schwanzmuskel, Kiemen, Magen, Darm und Antennendrüse der männlichen Tiere. Frisch gehäutete Tiere = 0, Max. = 100.

Mono- und Oligosaccharide umfassen kann. Hierbei zeigen sich sehr deutliche Unterschiede zwischen den Organen, wie im zweiten Kapitel beschrieben wurde. Verallgemeinern läßt sich, daß für eine Speicherung der Glucosebausteine offensichtlich drei Möglichkeiten bestehen: Als Glykogen, als Maltosesaccharide und als Trehalose. Inwieweit die beiden erstgenannten verbunden sind (MEENAKSHI u. SCHEER, 1961), ist nicht sicher zu entscheiden; es ist ebenso möglich, daß die Crustaceen über drei getrennte Systeme verfügen. Die Speicherung freier Glucose und Galaktose dürfte im allgemeinen nicht bedeutend sein.

3.2

Die Fortpflanzung

Die Reifung der Geschlechtsprodukte muß einen wesentlichen, zeitlich definierten Einfluß auf den Reservestoffhaushalt der Flußkrebse haben. Als Bezugsbasis bietet sich jeweils das andere Geschlecht an, zumal die Entwicklung für weibliche und männliche Tiere nicht genau zu gleichen Zeit erfolgt. Eine vorsichtige Analyse der Meßwerte unter Berücksichtigung der biologischen Gegebenheiten läßt für die männlichen Tiere nur Andeutungen zu (Fig.14):

Zur Zeit der Kopulationen Ende Februar bis Anfang April findet sich ein Maximum im Polysaccharidgehalt des Hodens (vergl. auch Fig. 8 , S. 64), das bis Mitte April wieder völlig abfällt. Zugleich sinkt das Hodengewicht von seinem Maximum im Januar - Februar auf seinen Minimalwert. In Verbindung damit kann der Anstieg der Blutzuckerwerte, das Auftreten der Fruktose sowie die Maxima in den Fraktionen I und III des Schwanzmuskels der männlichen Tiere gesehen werden.

Bei den weiblichen Tieren lassen sich im Zusammenhang mit der Eireifung wesentlich deutlichere Veränderungen beobachten (Fig.15):

- Die Ausbildung der Eier, insbesondere die Bildung der Reserve-substanzen für das Dotter, erfolgt in der Zeit nach der letzten Häutung im Herbst bis zur Ablage der Eier im Mai.
- Bereits Ende November hat das Ovar sein maximales Gewicht bei nur ca. 50 % Wassergehalt erreicht.
- Die Kohlenhydratspeicherung verläuft völlig gleichmäßig und betrifft fast ausschließlich die Fraktion III. Sie findet in drei Phasen bis Ende Januar statt:
 September bis Mitte Oktober - Anstieg der Kohlenhydratkonzentration bei mäßigem Anstieg der Ovargröße.
 Mitte Oktober bis Ende November - Hauptanstieg des Ovargewichtes bis zu seinem Endwert bei gleichbleibender Kohlenhydratkonzentration.
 Dezember bis Anfang Februar - Die Kohlenhydratkonzentration erreicht ihren Endwert.
- Das gespeicherte Polysaccharid ist nach der Eiablage Mitte Mai nur noch zu ca. 20 % in den Eiern nachzuweisen.

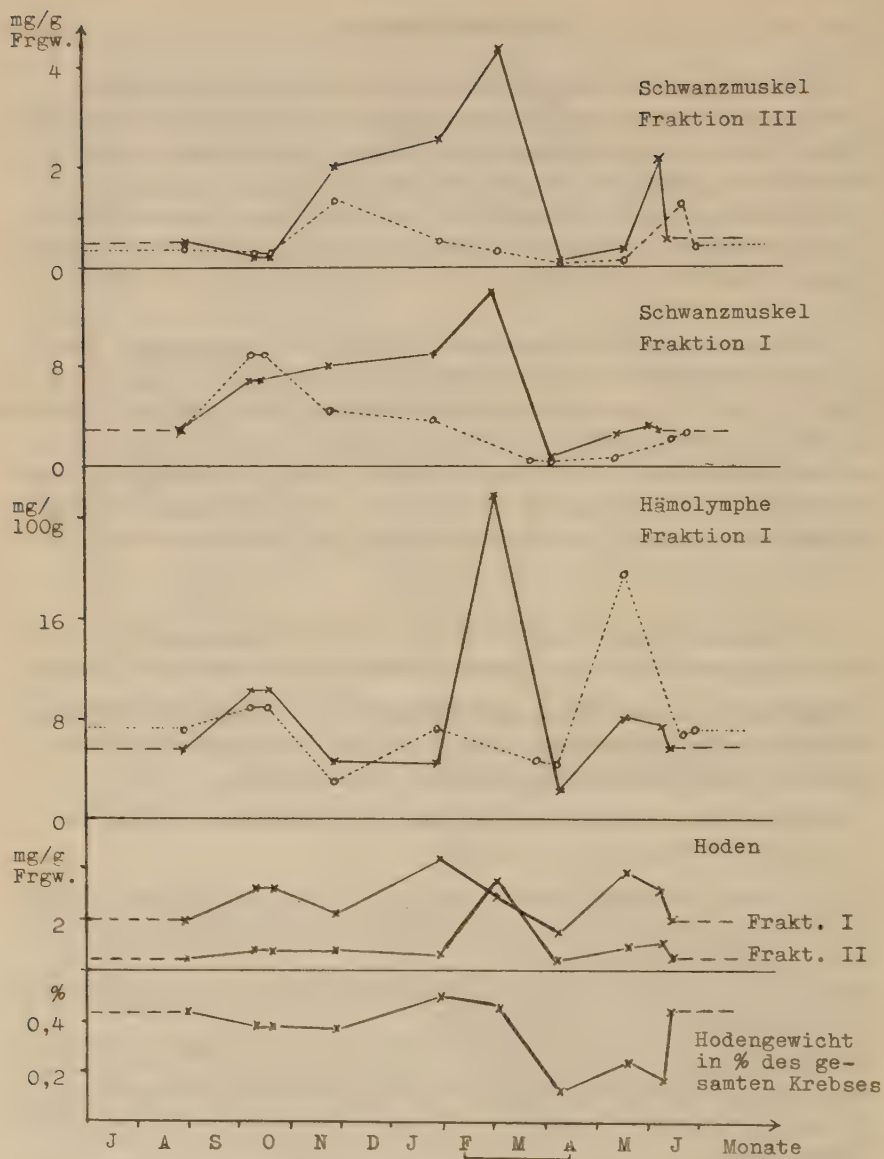


Fig. 14 Veränderungen im Kohlenhydrathaushalt der männlichen Tiere im Rahmen der Häutung. — Kopulationen
 —x—x— männliche —o—o— weibliche Tiere

- Während der gesamten Zeit der Eibildung, besonders aber ab Dezember, enthält der Magen der weiblichen Tiere in den Fraktionen I und II weitaus mehr Kohlenhydrat als die entsprechenden Fraktionen der männlichen Tiere.

- Die als sekundäres Speicherorgan charakterisierte Mitteldarmdrüse und der Schwanzmuskel zeigen dagegen einen deutlich niedrigeren Kohlenhydratgehalt, als er den männlichen Tieren zukommt. Deren Schwanzmuskelwerte erscheinen allerdings Ende Februar bis März als Bezugsbasis wenig geeignet, da hier eventuell ein Zusammenhang mit den Kopulationen vorliegt.

- In der Hämolymphe steigt die Fraktion I im Mai zur Zeit der Eiblage steil an. Weiterhin läßt sich im Winter ein Anstieg in der Fraktion III in Verbindung mit der Eibildung erkennen.

- Die Antennendrüse enthält in der Fraktion II von September bis März deutlich gegenüber den männlichen Tieren erhöhte Werte.

Es scheint verfrüht, aus diesen Einzelbefunden auf einen Mechanismus der Reservestoffbildung schließen zu wollen. Auch die wenigen Angaben aus der Literatur, die sich meist auf den Blutzuckergehalt (DRILHON, 1935; DEAN u. VERNBERG 1965a; TELFORD, 1965) oder wie bei SMITH (1914) auf die Mitteldarmdrüse und bei SCHWABE, SCHEER u. SCHEER (1952) auf die Mitteldarmdrüse, den Schwanzmuskel und die Hypodermis beziehen, helfen nicht weiter. Da eine exakte Angabe des physiologischen Zustandes der Tiere meist fehlt, ist nicht einmal sicher zu sagen, ob eine Übereinstimmung mit eigenen Befunden besteht.

Dagegen kann festgestellt werden, daß neben der Antennendrüse, deren Funktion noch am undeutlichsten ist, Muskel und Mitteldarmdrüse an der Bereitstellung der Kohlenhydrate beteiligt sind. Die erhöhten Werte im Magengewebe lassen vielleicht auf eine besonders intensive Nahrungsaufnahme schließen - die Beteiligung der Fraktionen I und II läßt diese Deutung in Übereinstimmung mit den Angaben S. 85 zu. Die Fraktion III spielt offenbar eine wesentliche Rolle: Muskel, Mitteldarmdrüse und Hämolymphe zeigen die stärksten Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Tieren in dem alkalilöslichen Polysaccharid, das als wesentlichstes Speicherkohlenhydrat im Ovar niedergelegt wird. Ob ein Transport des fertigen

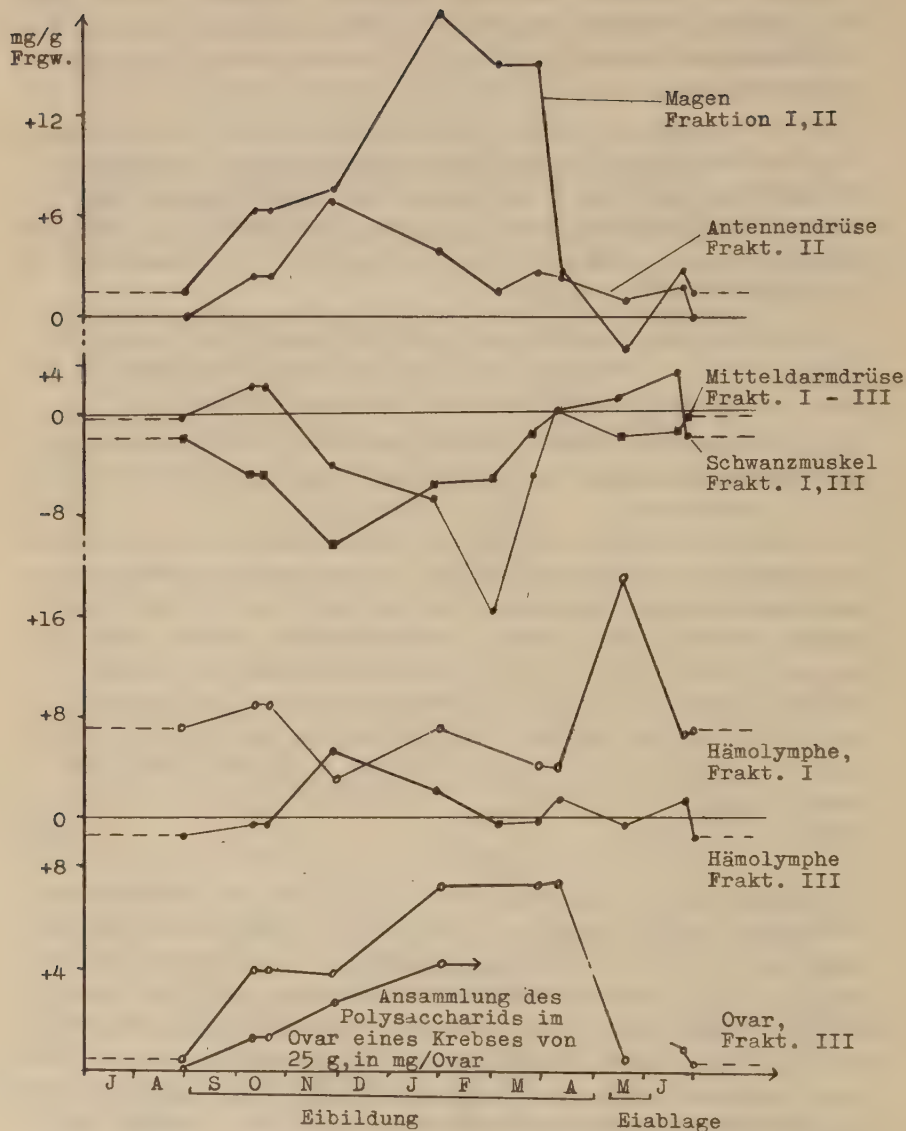


Fig. 15 Veränderungen im Kohlenhydrathaushalt der weiblichen Tiere im Rahmen der Fortpflanzung.

—•—•— Differenz zwischen ♂ und ♀; ○—○ weibliche Tiere

Polysaccharids in der Hämolymphe vonstatten geht, sei wiederum dahingestellt. Die Sonderstellung der Antennendrüse ergibt sich auch in dieser Hinsicht durch die ausschließliche Erhöhung der Fraktion II.

3.3

Die Häutung

Die Häutung ist eine der auffälligsten Erscheinungen im Leben der Crustaceen. In diesem Zusammenhang liegen auch die zahlreichsten und ausführlichsten Untersuchungen des Kohlenhydrathaushaltes vor. Dennoch fehlen Angaben über die meisten Organe und über die quantitativen Veränderungen der einzelnen Kohlenhydrate.

Bei einer Untersuchung des Flußkrebsses konnte nicht davon ausgegangen werden, daß die im Sommer stattfindenden 2 oder 3 Häutungen einen völlig identischen Verlauf nehmen. Die einzelnen Häutungen wurden, um einen Überblick zu erhalten, durch die Auswahl des Tiermaterials (s. S.15) zu einer einzigen Häutung zusammengefaßt. Die Veränderungen in Menge und Zusammensetzung der Kohlenhydrate entsprechen der physiologischen Bedeutung des Vorganges. Es sind alle Organe beteiligt, meist auf charakteristische, ihren übrigen Funktionen entsprechende Weise. Die verschiedenen beobachteten Vorgänge lassen sich keineswegs nur durch eine Ansammlung von Glykogen für die Chitinsynthese in der Epidermis erklären. Sie entsprechen der Mannigfaltigkeit und unterschiedlichen Funktion der beschriebenen Kohlenhydrate. Zunächst sollen die einzelnen Befunde kurz geschildert und mit den Literaturangaben verglichen werden (s. Fig.16).

- Alle Organe, die als Speicher dienen oder das allgemeine Kohlenhydratangebot im Körper widerspiegeln (Magen, Enddarm, Schwanzmuskel, Herz, Antennendrüse, Kiemen, Nervensystem), zeigen ein Maximum des Neutralzuckergehaltes in der Vorhäutungszeit Mitte April bis Mitte Juni beziehungsweise unmittelbar vor der Häutung. Während der Häutung erfolgt ein deutlicher Abfall in allen drei Kohlenhydratfraktionen mit zwei Ausnahmen:

Herz - die Fraktion I steigt stark an;

Schwanzmuskel - die Fraktion I zeigt keine Veränderung.

- Die Mitteldarmdrüse läßt bei den männlichen Tieren kein Vorhäutungsmaximum erkennen, der Anstieg (Fig.16) ist nur auf die Fraktion I

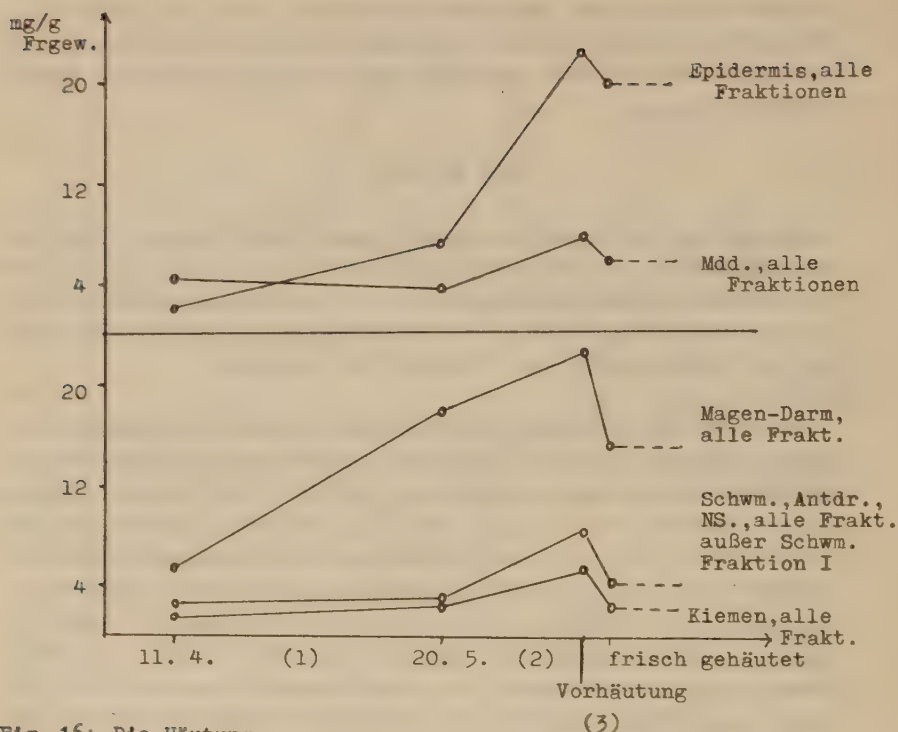


Fig. 16: Die Häutung

Durchschnittliche Kohlenhydrat-Konzentrationen von männlichen und weiblichen Tieren in mg Glukoseäquivalenten/g Frischgewicht in den Organen

zurückzuführen, das geringe Maximum auf die Fraktion I und in weit geringerem Maße noch II allein der weiblichen Tiere.

- Das Herz folgt offenbar besonderen Anforderungen: Der an sich vergleichsweise niedrige Polysaccharidgehalt wird nur unwesentlich gesenkt (Fraktion III), dagegen erhöht sich die Konzentration der alkohollöslichen Zucker um mehr als das Vierfache. Ein Zusammenhang mit dem im Rahmen der Häutung vergrößerten Blutvolumen ist möglich.

- Die Epidermis zeigt vor der Häutung von allen Organen den stärksten Kohlenhydratanstieg; die Fraktionen I und II erreichen kurz nach der Häutung ihren Maximalwert; die Fraktion III fällt kurz vor

oder während der Häutung scharf ab.

- Ein Anstieg der Fraktion I und geringer auch der löslichen Polysaccharide des Carapax unmittelbar vor der Häutung kann als Resorption eines Teils des organischen Materials gedeutet werden.
- In der Hämolymphe ist zur Zeit der Häutung nur ein Anstieg der Polysaccharidfraktionen zu verzeichnen.

Eine Deutung der Diskrepanz in der Fraktion I der Mitteldarmdrüse zwischen männlichen und weiblichen Tieren ist vorerst nicht möglich. BAUMBERGER u. DILL (1928) fanden bei Callinectes auch nur in dem frühen Stadium D einen entsprechenden Unterschied zwischen den männlichen und weiblichen Tieren, der allerdings viel weitreichender zu sein scheint. Die Veränderungen des Blutzuckergehalts sind schwer zu beurteilen, da eine geeignete Bezugsbasis fehlt. Den Literaturangaben (DRILHON, 1935; MCWHINNIE u. SALLER, 1960; RIEGEL, 1960) zufolge wäre eine Erhöhung im Stadium D zu erwarten gewesen, aber auch SCHEER (1959) findet bei Carcinus bis zum Stadium D₁₋₂ keine Veränderung. Der bei Orconectes festzustellende Anstieg des Gesamtkohlenhydrats wird in der Literatur allgemein bestätigt (BAUMBERGER u. DILL, 1928; RENAUD, 1949; SCHWABE, SCHEER u. SCHEER, 1952; SCHEER, 1959), wobei SCHEER (1960) auf die an sich nicht hohen Differenzen im Kohlenhydratgehalt von Garnelen hinweist. Dagegen zeigen BERNARD (1856), KIRCH (1886), SMITH (1914), RENAUD (1949), SCHWABE, SCHEER u. SCHEER (1952), TRAVIS (1955a/1957) und DEAN u. VERNBERG (1965b), daß die Mitteldarmdrüse durch Ansammlung von Glykogen eine wichtige Rolle für die Häutung spielt. Die Werte der im Frühjahr untersuchten Flußkrebse scheinen in deutlichem Gegensatz zu dieser allgemeinen Erscheinung zu stehen, sind aber vielleicht aus der besonderen physiologischen Situation der Tiere nach dem ausgeprägten Frühjahrsminimum zu verstehen.

Die Veränderungen in der Zusammensetzung der Neutralzucker sind auf einen relativ einfachen Nenner zu bringen: In nahezu allen Organen wird der Glucoseanteil oder der Anteil der Maltosesaccharide auf Kosten der verschiedenen Polymeren erhöht. Insbesondere die Trehalosekonzentration ist kurz nach der Häutung niedrig. Ebenso wird in allen Organen (mit Ausnahme der Antennendrüse, vergl. S.66) der Zuckerphosphatanteil erhöht. Beide Erscheinungen können im Sinne

einer allgemeinen Aktivierung des Kohlenhydratstoffwechsels verstanden werden. Die übrigen Zuckerderivate zeigen kein so einheitliches Verhalten; ihr Anteil wird in einigen Organen auch in den Polysacchariden bei den frisch gehäuteten Tieren vergrößert. In jedem Falle ist die Übereinstimmung der Werte von frisch gehäuteten männlichen und weiblichen Tieren besser als außerhalb der Häutungszeit.

Unter Berücksichtigung der Funktion der verschiedenen Organe soll versucht werden, auf die Vorgänge während der Häutung und Neubildung des Integuments bei Orconectes limosus zu schließen. Als Vergleich und als Grundlage können die Untersuchungen und Folgerungen von RENAUD (1949) dienen. Die Ergebnisse sind in der Fig.17 zusammengefaßt: Die Speicherung zur Häutung beginnt in der Phase 1 (zwischen den Messungen vom 11. 4. und 20. 5.) mit einem gleichmäßigen Anstieg der Kohlenhydrate in Magen und Darm, die zum großen Teil gar nicht erst in Polysaccharide umgebaut werden. Die Mitteldarmdrüse fungiert in dieser Zeit als reines Stoffwechselorgan (vergl. S.59f), das gleichmäßig fast sämtliches Kohlenhydrat an die Epidermis und in geringerem Maße auch an die übrigen Organe abgibt (vergl. SCHWABE, SCHEER u. SCHEER, 1952). Diese Annahme wird auch durch einen Vergleich des Verhältnisses der Fraktionen II und III zu I in den einzelnen Organen im Stadium D gestützt. Die Mitteldarmdrüse zeigt fast ausschließlich die für Umsetzungen oder Transport notwendigen niedermolekularen Kohlenhydrate, während die Epidermis als einziges Organ, das in großem Maße speichert, den höchsten Polysaccharidanteil aufweist (Tab. 13).

Organ	Polysaccharid : Mono- und Oligosaccharid		
Mitteldarmdrüse	1	:	5,5
Antennendrüse	1	:	2,2
Magen	1	:	1,9
Enddarm	1	:	1,6
Kiemen	1	:	1,4
Schwanzmuskel	1	:	0,7
Epidermis	1	:	0,4
Tab. 13: Vergleich der Polysaccharidkonzentration mit der Konzentration der Mono- und Oligosaccharide im späten Vorhäutungsstadium			

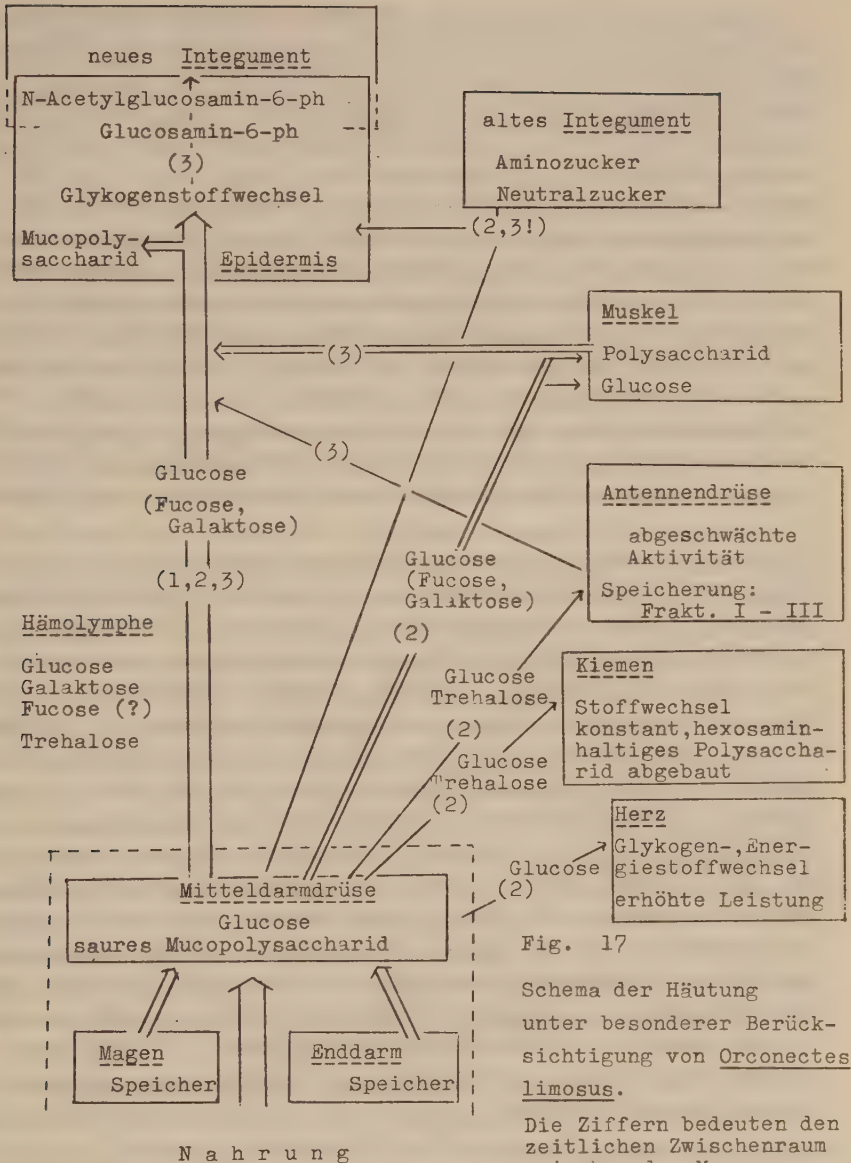


Fig. 17

Schema der Häutung unter besonderer Berücksichtigung von *Orconectes limosus*.

Die Ziffern bedeuten den zeitlichen Zwischenraum zwischen den Messungen 11. 4.

- (1) 20. 5.
- (2) Vorhäutungsstadium
- (3) frisch gehäutete Tiere.

Es ist nicht zu entscheiden, inwieweit der Magen-Darm-Kanal Kohlenhydrate direkt an die übrigen Organe abgeben kann. Während Herz und Kiemen fast ausschließlich mit Glucose für den eigenen Bedarf versorgt werden (geringe gespeicherte Menge, erhöhte Anforderungen, vergl. S.62), scheint die Antennendrüse, die während der Häutung offensichtlich weniger aktiv ist (vergl. S.66), geringe Mengen auch für den allgemeinen Bedarf zu speichern. Ebenso gibt der Schwanzmuskel wahrscheinlich einen Teil des Polysaccharids ab, wenn auch sicher während der Häutung ein erhöhter Verbrauch vorliegt. Die Bedeutung des Schwanzmuskels wäre trotz geringerer Kohlenhydratkonzentration wegen seines hohen Gewichtsanteils zu beachten. Sein Gehalt an alkohollöslichen Zuckern wird vor der Häutung auch erhöht, dann aber bis nach der Häutung konstant gehalten. Im Vorhäutungsstadium ist - durch Resorptionerscheinungen bedingt - im alten Integument ein Anstieg der löslichen Neutralzucker zu verzeichnen. RENAUD (1949) konnte dasselbe für Hexosamin beobachten.

Neben der Verteilung der verschiedenen Substanzen über die Organe sind die Transportvorgänge von großer Bedeutung für das Verständnis des Kohlenhydratstoffwechsels während der Häutung. Es wird regelmäßig ein wechselndes Auftreten der Kohlenhydrate in der Mitteldarmdrüse und Epidermis (SCHWABE, SCHEER u. SCHEER, 1952; TRAVIS, 1955a/1957) und ein Ansteigen des Gesamtglykogengehaltes (BAUMBERGER u. DILL, 1928; SCHEER, 1959) festgestellt. Der daraus gefolgerte Transport von der Mitteldarmdrüse zur Epidermis ist zwar sehr wahrscheinlich, aber nie direkt gemessen worden. Eine Erhöhung des Blutzuckers zur Zeit der Häutung (MCWHINNIE u. SALLER, 1960; DRILHON, 1935; RENAUD, 1949; RIEGEL, 1960) ist meist in diesem Sinne gedeutet worden, nur DRILHON (1935) nimmt an, daß diese Erscheinung im Zusammenhang mit dem erhöhten Energiebedarf steht. Dabei sind die Befunde hier keineswegs einheitlich: SCHEER (1949) berichtet, daß der Blutzucker von Carcinus im Häutungszyklus nicht verändert wird, und die Angaben von RIEGEL (1960) und MCWHINNIE u. SALLER (1960) dürften sich in bezug auf Veränderungen in der Zusammensetzung des Blutzuckers widersprechen.

Insgesamt steht im Rahmen der Häutung der Transport folgender Substanzen zur Diskussion:

- Glucose und Derivate: Der Transport kann sowohl in Form der freien Glucose als auch der Trehalose oder der Maltosesaccharide erfolgen. Die Konzentration im Blut ist offensichtlich wesentlich von anderen Faktoren als der Intensität der Transportvorgänge abhängig.

- Das glucose-, galaktose- und fucosehaltige saure Mucopolysaccharid: Der Nachweis dieser Bestandteile im Polysaccharid der Hämolymphe entspricht den Befunden von DALL (1964) an Metapenaeus über Polysaccharid transportierende Amöbocyten. Dennoch kommt auch ein Transport der Bausteine in Frage. Glucose und Galaktose sind ständig in der Hämolymphe vorhanden, Fucose wurde von MEENAKSHI u. WANG (1961) und DEAN u. VERNBERG (1965b) nachgewiesen. Das scheinbare Fehlen bei Orconectes sagt an sich wenig aus, zumal nach MEENAKSHI u. SCHEER (1961) nur in dem hier qualitativ nicht untersuchten Vorhäutungsstadium ein Transport stattfinden soll.

- Die Aminosucker: Wegen der geringen Aussagekraft und der an sich minimalen Schwankungen soll die Konzentration der Hexosamine oder deren Derivate in der Hämolymphe nicht diskutiert werden. Die Frage des Transports der in der Epidermis benötigten Aminosucker ist auf die Frage nach dem Ort der Glucoseaminierung zurückzuführen. Von den von RENAUD (1949) angegebenen drei Möglichkeiten (Mitteldarmdrüse, Hämolymphe, Epidermis) scheidet nach heutigen Kenntnissen die Hämolymphe von vornherein aus. Für die Mitteldarmdrüse spricht im wesentlichen deren allgemeine Bedeutung im Stoffwechsel sowie insbesondere die Erhöhung des N-Acetylhexosamingehaltes bei den frisch gehäuteten Tieren. Dagegen wäre anzuführen, daß viele andere Organe eine ganz ähnliche Verdoppelung des N-Acetylhexosamins erfahren. Die Mitteldarmdrüse der weiblichen Tiere erhöht in wesentlich stärkerem Maße im Oktober im Zusammenhang mit der Eibildung nicht die Konzentration der acetylierten Aminosucker, sondern des erst nach Hydrolyse aus der Fraktion I freiwerdenden Hexosamins.

Wichtiger ist noch, daß während der Abgabe von Kohlenhydraten aus der Mitteldarmdrüse und der Ansammlung in der Epidermis im Stadium D, in dem noch kein Chitin gebildet wird, keinerlei nennenswerte Erhöhung des Aminosuckergehaltes in irgendeiner Form auftritt. Dagegen werden unverhältnismäßig mehr Neutralzucker in der Epidermis gespeichert (RENAUD, 1949). Es darf daher als sehr wahrscheinlich angenommen werden, daß die Aminierung der Glucose und die ge-

samte Chitinsynthese in den Geweben der Epidermis beziehungsweise des Integuments stattfindet. Zu beachten wäre weiterhin die Synthese in Magen und Enddarm und den Kiemen.

Mit der bisher diskutierten Speicherung der Neutralzucker in den verschiedenen Formen (Glucose - Trehalose - Maltosesaccharide - Glykogen), deren Transport zur Epidermis und der Synthese der Aminosucker und des Chitins nach der Häutung sind sicher nicht alle Aspekte im Kohlenhydratstoffwechsel behandelt. Insbesondere über die Beteiligung der verschiedenen galaktose-, fucose-, hexosamin- und hexuronsäurehaltigen Polymeren können offenbar nur genauere Untersuchungen der einzelnen Polysaccharide Auskunft geben.

3.4 Haltung unter unphysiologischen Bedingungen

In Vorversuchen im Winter 1964/65 wurden Tiere aus der Hälterung des Instituts untersucht. Die frisch gefangenen Krebse waren etwa Ende Oktober in flache Eternit- oder Zementbehälter gekommen, die langsam aber ständig von Leitungswasser durchströmt wurden. Die Temperatur fiel bis Mitte Januar von 12 °C auf ca. 7 °C ab. Es herrschte Dämmerlicht mit dem natürlichen Hell-Dunkel-Wechsel, Versteckmöglichkeiten waren vorhanden. Die Besatzdichte lag bei maximal 150 Stück pro m² und 150 Liter Wasser. Die Fütterung erfolgte im wesentlichen mit Herzfleisch wöchentlich oder alle 14 Tage.

Bei der Untersuchung besonders der männlichen Tiere fiel ein sehr hoher, zum Teil ständig steigender Gehalt an Reservekohlenhydrat auf (Fig. 18). Die später ermittelten Vergleichswerte an frisch gefangenen Tieren zeigen, daß unter natürlichen Verhältnissen eine derartige Anhäufung nie vorkommt. Hervorzuheben ist, daß Fraktionen, die der Speicherung dienen, bevorzugt oder ausschließlich betroffen sind. So zeigen die alkohollöslichen Zucker der Mitteldarmdrüse und des Herzens eine nur sehr geringe Erhöhung, während charakteristischerweise die Fraktion I des Schwanzmuskels, deren Speicherfunktion schon vorn hervorgehoben wurde, deutlich und sofort betroffen ist. Ebenso wie bei den Polysacchariden des Herzens scheint bereits bei den ersten untersuchten Tieren eine obere Grenze erreicht zu sein. Der Polysaccharidgehalt des Schwanzmuskels wird erst spät und - nach anderen Versuchen zu urteilen - sprunghaft erhöht.

Die gewählten Hälterungsbedingungen waren so weit wie möglich natürlich und neutral, das heißt, sie sollten keine besondere physiologische Situation, wie die Häutung (niedrige Temperatur) oder Speicherung ("Erhaltungskost"), fördern. Auf Paarung und Fortpflanzung wurde kein Einfluß genommen. Das Ergebnis zeigt jedoch deutlich, daß es auf diesem Weg der Hälterung unmöglich ist, physiolo-

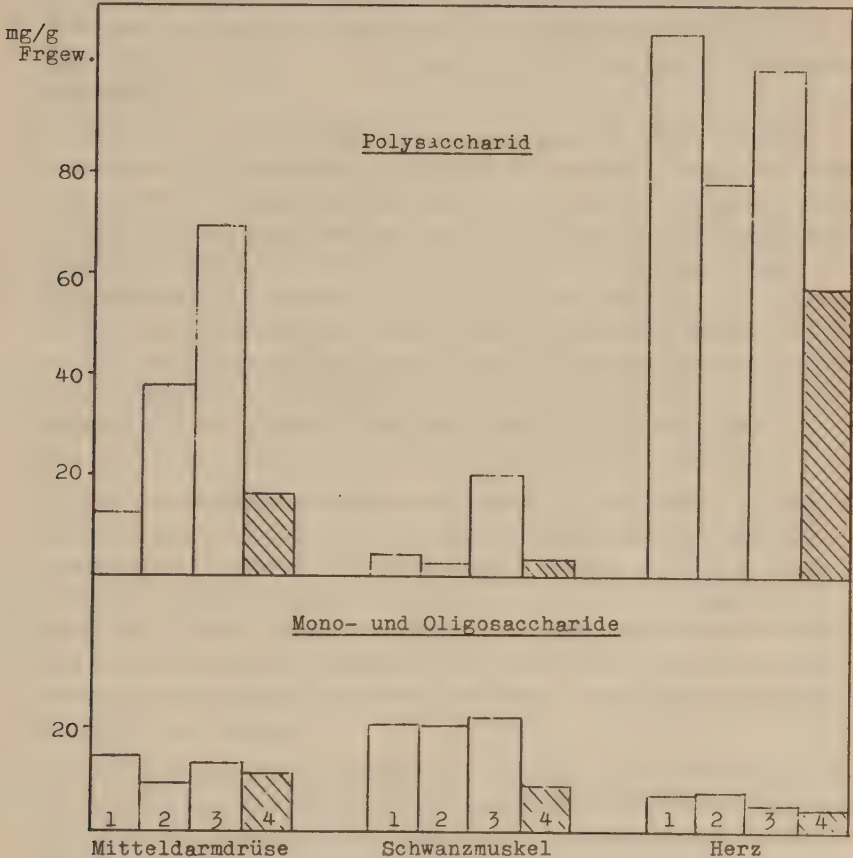


Fig. 18 Darstellung der Kohlenhydratkonzentrationen in den Organen von gehälterten und frisch gefangenen männlichen Tieren.

- (1) gehälterte Tiere, am 15. 12. 64 untersucht
- (2) gehälterte Tiere, am 28. 12. 64 untersucht
- (3) gehälterte Tiere, am 19. 1. 65 untersucht.

(4) der jeweilig höchste Wert, der an frisch gefangenen Tieren gemessen wurde.

gisch indifferente Tiere zu erhalten. Die aus dem natürlichen Zusammenspiel der äußeren Faktoren gerissenen Krebse reagieren zwar offensichtlich in gesetzmäßiger Weise, doch können die erhaltenen Werte nicht kritiklos zur Deutung der vorn erörterten Verhältnisse im Kohlenhydrathaushalt herangezogen werden.

Zusammenfassung

- 1 Im Rahmen einer Untersuchung des Kohlenhydratspektrums und -haushalts des Flußkrebse Orconectes limosus Raffinesque wurde von zwei Ansätzen ausgegangen:

Die Speicherung und der Verbrauch von Kohlenhydrat im Laufe des Jahres unter Beachtung der verschiedenen physiologischen Faktoren wurde durch wiederholte Messungen der Neutralzucker bei männlichen und weiblichen Tieren in allen zugänglichen Organen untersucht.

- 2 In drei wichtigen Phasen des Jahrescyclus wurde ein möglichst vollständiges Kohlenhydratspektrum aufgenommen. Insgesamt wurden die folgenden Zucker nachgewiesen und gemessen: Glucose, Galaktose, Fruktose, Trehalose, Maltose, Maltotriose, Maltotetraose, Gesamtzuckerphosphate, N-Acetylhexosamin, freies und Gesamthexosamin und Hexuronsäuren (Glucuronsäure). Die Polysaccharide, von denen nur die Zusammensetzung der Hydrolysate festgestellt werden konnte, enthielten: Glucose, Galaktose, Fucose, Hexosamin (Glucosamin und Galaktosamin) und Hexuronsäure. Für alle Komponenten wurde ein wesentlich auf dünn-schichtchromatographischen Verfahren basierendes System für die quantitative Analyse zusammengestellt.

- 3 Die Gesamtkohlenhydratkonzentration in den Organen liegt im allgemeinen zwischen 2 und 50 mg/g Frischgewicht, in der Hämolymphe um den Faktor 100 niedriger, im Herzen besonders hoch.

Die einzelnen Organe weisen ein charakteristisches, aber im Laufe des Jahres stark veränderliches Kohlenhydratspektrum auf. Nur selten überwiegt eine einzige Substanz. Art und Menge der vorkommenden Kohlenhydrate stehen meist in deutlicher Beziehung zur Funktion der Organe.

- 4 Die quantitativen Veränderungen im Laufe des Jahres sind weit aus größer als die Unterschiede zwischen den Organen. Eine Speicherung von Kohlenhydrat erfolgt in stärkstem Umfang im Winter und vor der Häutung. Der geringste Kohlenhydratgehalt in allen Organen wird im Frühjahr gefunden. Der größte Teil der Kohlenhydrate wird in Form von Glucosebausteinen gespeichert, wobei vier verschiedene Möglichkeiten bestehen: als freie Glucose, als Trehalose, als Maltoseoligosaccharide und als Glykogen. Von diesen Möglichkeiten wird in den einzelnen Organen und zu den verschiedenen

Jahreszeiten sehr unterschiedlich Gebrauch gemacht.

- 5 Der Vergleich aller gewonnenen Daten ermöglicht eine Charakterisierung der Organe in bezug auf den Kohlenhydratstoffwechsel: Die Zusammensetzung der Kohlenhydrate in *Magen* und *Enddarm* weist auf die Vorrangstellung des Glykogenstoffwechsels hin. Es wurde eine enge Verknüpfung des Neutralzuckergehaltes mit dem Nahrungsangebot gefunden.

Die *Mitteldarmdrüse* ist offensichtlich von hervorragender Bedeutung für den Stoffumsatz, insbesondere auch der Zuckerderivate. Neben der wesentlich durch ihre Größe bedingten Speicherfunktion scheint sie auch die Verteilung der Kohlenhydrate zu übernehmen.

Der *Schwanzmuskel* fungiert hauptsächlich durch Anreicherung von Glucose und Trehalose als der Speicher mit der größten Kapazität. Beachtenswert ist der sehr hohe Trehaloseanteil der alkohollöslichen Zucker im Frühjahr (90 - 95 %).

Der höchsten Glykogengehalt aller Organe überhaupt und ein entsprechend hoher Anteil an Maltosesacchariden charakterisieren das *Herz*. Als Besonderheit kann weiterhin die starke Erhöhung der Oligosaccharidkonzentration während der Häutung angeführt werden.

Die Zusammensetzung der Kohlenhydrate in der *Epidermis* weist - neben der Betonung der Speichervorgänge auch für Glykogen - stark auf einen hohen Stoffumsatz hin. Auch während der Überwinterung im Zwischenhäutungsstadium erfüllt die Epidermis Speicherfunktion.

Die *Antennendrüse* und die *Kiemenn* sind durch verhältnismäßig geringe Veränderungen im Kohlenhydratgehalt gekennzeichnet. Dabei deutet sich während der Häutung in der Antennendrüse eine Abschwächung des Kohlenhydratumsatzes im Gegensatz zu allen übrigen Organen an. Die Kiemenn sind durch einen hohen Anteil der Zuckerderivate am Gesamtkohlenhydratgehalt ausgezeichnet.

- 6 Weiterhin konnte auf die Funktionen der einzelnen Kohlenhydrate sowie auf verschiedene Vorgänge im Zusammenhang mit der Speicherung, der Fortpflanzung und der Häutung eingegangen werden. Ausführlich wird die Häutung unter Beachtung aller Organe diskutiert.

Literaturverzeichnis

Arbeiten, die im Referat gelesen wurden, sind mit einem + gekennzeichnet.

- +AMINOFF, D., W.T.J. MORGAN and W.M. WATKINS (1952): Biochem. J. 51, 379. Zit. n. HOPPE-SEYLER/THIERFELDER (1955)
- ASAHINA, E. and K. TANNO (1964): A large amount of trehalose in a frost resistant insect. Nature 204, 1222
- BAUMBERGER, J.P. and D.B. DILL (1928): A study of the glycogen and sugar content and osmotic pressure of crabs during molt cycle. Physiol. Zool. 1, 545 - 549
- +BELL, D.J. (1947): J.Chem.Soc. 1947, 1461
Zit. n. PERCIVAL, E. (1963)
- BERGREEN, P.W., V.R. MEENAKSHI and B.T. SCHEER (1961): The oxidation of glucose by crustaceans. Comp. Biochem. Physiol. 2, 218 - 220
- +BERNARD, C. (1853): Recherches sur une nouvelle fonction du foie. Ann. Soc. Nat. Zool. 19.
- +BERNARD, C. (1879): Leçons sur les phénomènes de la vie, II. Paris
- BOAS, N.F. (1953): Method for the determination of hexosamines in tissues. J.Biol.Chem. 204, 553 - 563
- CLEGG, J.S. (1965): The origin of trehalose and its significance during the formation of encysted dormant embryos of Artemia salina. Comp. Biochem. Physiol. 14, 135 - 143
- CLEGG, J.S. and EVANS, D.R. (1961): The physiology of blood trehalose and its function during flight to exhaustion in the blowfly. J. Exp. Biol. 38, 771 - 792
- CRAMER, F. (1958): Papierchromatographie. Verlag Chemie
- DALL, W. (1964): Studies on the physiology of a shrimp, Metapenaeus mastersii Haswell: I Blood constituents. Aust. J. Mar. Freshw. Res. 2, 145 - 161
- DALL, W. (1965 c): Studies on the physiology of a shrimp, Metapenaeus mastersii Haswell: IV Carbohydrate Metabolism. Aust. J. Mar. Freshw. Res. 16, 163 - 180
- DEAN, J.M. and F.J. VERNBERG (1965a): Variations in the blood glucose level of Crustacea. Comp. Biochem. Physiol. 14, 29-34
- DEAN, J.M. and F.J. VERNBERG (1965b): Effects of temperature acclimation on some aspects of carbohydrate metabolism in Decapod Crustacea. Biol. Bull. 129, 87 - 94

- DISCHE, Z. (1961): New colour reactions for determination of sugars in Polysaccharid. Methods of Biochemical Analysis, Vol. II
- DRACH, P. (1939): Mue et cycle d'intermue chez les Crustacés Décapodes. Ann. Inst. Océanogr., Monaco 19, 103 - 391
- DRILHON, A. (1935): Etude biochimique de la mue chez les Crustacés Brachyours (Maia squinado). Ann. Physiol. Physicochim. biol. 11, 301 - 326
- DUTRIEU, J. (1959): Présence de trehalose dans l'œuf durable d'Artemia salina. C.R. Acad. Sci., Paris 248, 1038 - 1039
- ⁺ELSON, L.A. and W.T.J. MORGAN (1933): Biochem. J. 27, 1824
Zit. n. HOPPE-SEYLER/THIERFELDER (1955)
- FAIRBAIRN, D. (1958): Trehalose and glucose in Helminths and other Invertebrates. Canad. J. Zool. 36, 787 - 795
- FLORKIN, M. and C. JEUNIAUX (1964): Hemolymph - composition. In: ROCKSTEIN, M. (Edit.), The physiology of Insecta, Vol. III. New York, London: Academic Press
- GRASSMANN, W., H. HÖRMANN und R. HAFTER (1957): Eine quantitative Bestimmung von Kohlenhydraten als Osazone. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 307, 87
- ⁺GREEN, J. (1965): Chemical embryology of Crustacea. Cambridge: University Press
- HANSEN, O. (1964): Effects of diet on the amount and composition of locust blood carbohydrates. Biochem. J. 92, 333 - 337
- HEINEMANN, F. (1964): Der Gewebestoffwechsel einheimischer Dekapoden und seine Bedeutung für ihre Biologie und Ökologie. Zool. Jb. Physiol. 71, 89 - 116
- HINSBERG, K. und K. LANG (1957): Medizinische Chemie, III. Aufl. Urban & Schwarzenberg, München - Berlin - Wien
- HOCHACHKA, P.W., J.M. TEAL and M. TELFORD (1962): Pathways of carbohydrate metabolism in lobster hepatopancreas. Canad. J. Biochem. Physiol. 40, 1043 - 1050
- HOPPE-SEYLER/THIERFELDER (1955): Handbuch der physiologisch- und pathologisch - chemischen Analyse, III/1, 10. Aufl., Springer Verlag
- HU, A.S. (1958): Glucose metabolism in the crab Hemigrapsus nudus. Arch. Biochem. Biophys. 75, 387 - 395
- ⁺HUNT, S. and F.R. JEVONS (1965): The hypobranchial mucin of whelk Buccinum undatum L. Biochem. J. 97, 701 - 709
- KEIL-SORMOVA (1965): Laboratoriumstechnik für Biochemiker, Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig

- KEILLER, R. (1964): Die Aktivitäten von Enzymen der Glykolyse und des Citronensäurecyclus in den einzelnen Organen des Flußkrebses Cambarus affinis Say. Diss., Berlin
- KERKUT, G.A. and M.A. PICE (1964): Chromatographic separation of cardiaccelerators (6 HT and a mucopeptide) from Carcinus heart. Comp. Biochem. Physiol. 11, 45 - 52
- KERMACK, W.O., H. LEES and J.D. WOOD (1954): Enzymes of lobster tissues. Biochem. J. 52, XXII - XXIII
- +KIRCH, (1886): Das Glykogen in den Geweben des Flußkrebses. Inaug. Diss., Bonn
- KLEINHOLZ, L.H., V.J. HAVEL and R. REICHART (1950): Studies in the regulation of blood sugar concentrations in crustaceans. II. Experimental hyperglycemia and the regulatory mechanisms. Biol. Bull. 92, 454 - 468
- KLEINHOLZ, L.H. and B.C. LITTLE (1949): Studies in the regulation of blood sugar concentrations in crustaceans. I. Normal values and experimental hyperglycemia in Libinia emarginata. Biol. Bull. 96, 218 - 227
- LEE, D.L. (1965): The physiology of Nematodes. Edinburgh and London Oliver & Boyd
- LIPKE, H., B. GRAVES and S. LETO (1965b): Polysaccharide and glycoprotein formation in the Cockroach. II. Incorporation of D-glucose C ¹⁴ into bound carbohydrate. J. Biol. Chem. 240, 601 - 608
- MEENAKSHI, V.R. and B.T. SCHEER (1959): acid mucopolysaccharide of the crustaceans cuticle. Science 130, 1189 - 1190
- MEENAKSHI, V.R. and B.T. SCHEER (1961): Metabolism of glucose in the crabs Cancer magister and Hemigrapsus nudus. Comp. Biochem. Physiol. 3, 30 - 41
- MEENAKSHI, V.R. and WANG (1961): Zit. n. SCHEER, B.T. and V.R. MEENAKSHI (1961)
- +MEJEBAUM (1939): Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 258, 117
Zit. n. KEIL - SORMOVA (1965)
- MERK, E. (AG), (1961): Chromatographie. Darmstadt
- NARUMI, K. and T. TSUMITA (1965): The isolation and identification of α, α' -Trehalose-6,6'-diphosphat, a subunit of the phosphorylated polysaccharide of Mycobacterium tuberculosis. J. Biol. Chem. 240, 2271 - 2276
- NEILAND, K.A. and B.T. SCHEER (1953): The influence of fasting and of sinus gland removal on body composition of Hemigrapsus nudus. Physiol. Comp. Oecol. 3, 321 - 326

- PEARSE, A.G.E. (1961): Histochemistry
London: J. & A. Churchill Ltd.
- PERCIVAL, E. (1963): The Monosaccharides. In FLORKIN, M. and E.H. Stotz (Edit.) Comprehensive Biochemistry, Vol. 5: Carbohydrates, Elsevier Publishing Company, Amsterdam - London - New York, 1963
- RANDERATH, K. (1965): Dünnschichtchromatographie, Weinheim: Verlag Chemie
- RENAUD, L. (1949): Le cycle des réserves organique chez les Crustacés Décapodes. Ann. Inst. Océanogr. Paris 24, 259 - 357
- RIEGEL, J.A. (1960): Blood glucose in crayfishes in relation to molt and handling. Nature 186, 727
- ROCHE, J. et C. DUMAZERT (1940): Sur les glucides de l'hémolymphe de Cancer pagurus. Nature et rôle physiologique. Ann. Inst. Océanogr. Paris, 20, 87 - 95
- ROE, J.R. (1955): The determination of sugar in blood an spinal fluid with anthrone reagent. J. Biol. Chem. 212, 335 - 343
- SCHEER, B.T. (1959): The hormonal control of metabolism in crustaceans: IX. Carbohydrate metabolism in the transition from intermolt to premolt in Carcinides. Biol. Bull. 116, 175 - 183
- SCHEER, B.T. (1960): Some aspects of the intermolt cycle in Natantions. Comp. Biochem. Physiol. 1, 3 - 18
- SCHEER, B.T. and V.R. MEENAKSHI (1961): The metabolism of carbohydrates in arthropodes. In MARTIN, A.W. (Edit.), Comparative Physiology of Carbohydrate Metabolism in Heterothermic Animals. Seattle: University of Washington Press, 1961
- SCHEER, B.T. and M.A.R. SCHEER (1951): The hormonal control of metabolism in crustaceans: I. Blood sugar in spiny lobsters. Physiol. comp. oecol. 2, 198 - 209
- SCHEER, B.T., W. SCHWABE and M.A.R. SCHEER (1952): The hormonal regulation of metabolism in crustaceans. Part III: Tissue oxidations in crustaceans. Physiol. comp. oecol. 2, 327 - 338
- Schönborn, E. (1911): Beiträge zur Kenntnis des Kohlenhydratstoffwechsels bei Carcinus maenas. Zeitschr. Biol. 55, 70 - 82
- SCHWABE, W., B.T. SCHEER and M.A.R. SCHEER (1952): The moult cycle in Palinurus japonicus. Part II of the hormonal regulation of metabolism in crustaceans. Physiol. comp. oecol. 2, 310 - 320
- SMITH, G. (1914): The effect of reproductive cycle on glycogen and fat metabolism in Crustacea. Rep. 83th meet. Brit. Ass. Adv. Sc. Birmingham, 670 - 671

- ⁺SOMOGYI, M. (1944): J. Biol. Chem. 153, 375; Zit. n. HINSBERG, K. und K. LANG (1957)
- STAHL, E. (1962): Dünnschichtchromatographie. Berlin - Göttingen-Heidelberg: Springer Verlag
- ⁺STARY, Z. und M. YUVANIDIS (1953): Biochem. Z. 324, 206
Zit. n. HINSBERG, K. und LANG, K (1957)
- TELFORD, M. (1965): Carbohydrates in the blood of lobster, Homarus americanus. Can. J. Zool. 43, 503 - 508
- TRAVIS, F.D. (1955a): The molting cycle of the spiny lobster, Palinurus argus Latreille. II Pre-ecdysial histological and histochemical changes in the hepatopancreas and integumental tissues. Biol. Bull. 108, 88 - 112
- TRAVIS, F.D. (1957): IV Post-ecdysial histological and histochemical changes in the hepatopancreas and the integumental tissues. Biol. Bull. 113, 451 - 479
- TREHERNE, J.E. (1958): The absorption of glucose from the alimentary canal of the locust Schistocerca gregarina (Forsk). J. exp. Biol. 35, 297 - 306
- VILLENEUVE, J.L. et A. LEMONDE (1965): Les glucides de Tribolium confusum Duval. I. Identification. Arch. Int. Physiol. Bioch. 73, 681 - 688
- MCWHINNIE, M.A. and KIRCHENBERG, R.J. (1962): Crayfish hepatopancreas metabolism and the intermolt cycle. Comp. Biochem. Physiol. 6, 117 - 128
- MCWHINNIE, M.A. and P.N. SALLER (1960): Analysis of blood sugar in the crayfish Orconectes virilis. Comp. Biochem. Physiol. 1, 110 - 122
- WYATT, G.R. and G.F. KALF (1957): The chemistry of insect hemolymph II: Trehalose and other Carbohydrates. J. Gen. Physiol. 40, 833 - 847

Lebenslauf

Am 9. Januar 1941 wurde ich als Sohn des Gerichtsassessors Werner Speck und seiner Ehefrau Anna, geb. Emmerich in Berlin geboren. Mein Vater fiel 1944. Meine Mutter übte ihren Beruf als Photographenmeisterin bis 1958 aus. Ich besuchte von 1947 bis 1951 die Grundschule in Tegel und wechselte dann auf die 1. Grundschule in Spandau über, einer Vorbereitungsschule für das Gymnasium. Ab Frühjahr 1953 besuchte ich das Kant-Gymnasium in Berlin - Spandau, an dem ich auch im März 1961 die Reifeprüfung ablegte.

Im Sommersemester des gleichen Jahres begann ich das Studium der Zoologie an der Freien Universität Berlin und führte es hier ohne Unterbrechung fort. Ich bestand die Diplom - Vorprüfung im November 1963 und konnte im Herbst 1964 unter Anleitung von Herrn Prof. Urich in dem von ihm geleiteten Institut die Arbeiten für die vorliegende Dissertation beginnen.

Auf dem Gebiet der Zoologie waren die Herren Professoren Günther, Herter, Kemper, Peus, Ulrich und Urich meine akademischen Lehrer. Botanik hörte ich bei den Professoren Thielke, Eckhardt und Reinert, Genetik und allgemeine Biologie bei Herrn Prof. Lüers, Physik bei Herrn Prof. Lassen und Chemie bei den Herren Professoren Jahr, Broser und Riemschneider.

